Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

57. BAND, 1. HEFT
MIT 71 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 29. JUNI 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Planta (Berl.)

Preis DM 24.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität,
oder an
Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01, Fernschreibnummer 01-83 319
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2 79 01, Fernschreibnummer 04-61 723

57. Band **Inhaltsverzeichnis** 1. Heft

Seite

Gessner, F., I. Hackenberger und M. Schapiro, Das Wachstum infiltrierter Keimlinge. Mit 8 Textabbildungen 1

Döpp, W., Eine in Kultur entstandene diploide Pflanze von *Dryopteris filix-mas*. Mit 2 Textabbildungen 8

Hess, D., Die Beteiligung spezifischer Ribonucleinsäure an der Blühinduktion. Mit 6 Textabbildungen 13

Hess, D., Der Status der vegetativ tätigen Ribonucleinsäure während der Blühinduktion. Mit 5 Textabbildungen 29

Betz, A., Beobachtungen zum Antagonismus zwischen Asparagin und β-Alanin 44

Drawert, H., und M. Mix, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. VI. Mitteilung. Der Einfluß von Antibiotica auf die Chloroplastenstruktur bei *Micrasterias rotata*. Mit 23 Textabbildungen 51

Bünsow, R., Zur Physiologie der Achsengestaltung bei *Kalanchoë blossfeldiana*. I. Mitteilung. Die Hauptachse. Mit 15 Textabbildungen 71

Bünsow, R., Zur Physiologie der Achsengestaltung bei *Kalanchoë blossfeldiana*. II. Mitteilung. Die Seitenachsen. Mit 12 Textabbildungen 88

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 57, 1—7 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

DAS WACHSTUM INFILTRIERTER KEIMLINGE

Von

FRITZ GESSNER, INGRID HACKENBERGER und MARGARETE SCHAPIRO

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. März 1961)

Einleitung

In früheren Veröffentlichungen (GESSNER 1952, 1955; FERLING 1957) konnte gezeigt werden, daß bereits ein geringer hydrostatischer Überdruck von 1—2 Atm. Wachstum und Differenzierung submerser Phanerogamen völlig und zum Teil irreversibel hemmt. Es wurde die ökologische Bedeutung dieser offenbar allgemein für höhere Wasserpflanzen gültigen Erscheinung betont und hervorgehoben, daß nicht, wie bisher angenommen, das Licht sondern der hydrostatische Druck der Tiefenausbreitung der höheren Wasservegetation eine Grenze setzt. Unbeantwortet mußte jedoch damals die Frage bleiben, auf welchem Wege der hydrostatische Druck jene Hemmungen hervorrufe. Es wurde nur darauf hingewiesen, daß die unter Druck gesetzten Sprosse spezifisch schwerer werden als Wasser und daher meist untersinken und daß sie glasig durchsichtig erscheinen, eine Folge der Infiltration der Interzellularen mit Wasser. Hier schien sich ein Ansatzpunkt für die Kausalanalyse zu ergeben, „denn es ist vermutlich für den Gasstoffwechsel der Pflanze nicht gleichgültig, ob ihre Interzellularen mit Gas oder mit Wasser gefüllt sind" (FERLING 1957, S. 237).

In Weiterführung dieses Gedankens wurden Wachstumsuntersuchungen an infiltrierten Keimlingen durchgeführt, denn wenn als Hauptursache für die Wachstumshemmung die Erfüllung der inneren Gasräume mit Wasser in Betracht käme, müßte es gleichgültig sein, ob dies durch Überdruck oder Unterdruck zustande käme. Auch wurden die Versuche nicht an Wasserpflanzen, sondern an Keimlingen von Landpflanzen durchgeführt. Wenn Wachstumshemmung durch Infiltration der Lufträume eine allgemeine Erscheinung ist, müßte sie bei Landpflanzen ebenso zu beobachten sein wie an Wasserpflanzen. Literaturangaben über das hier behandelte Problem scheinen bisher nicht vorzuliegen, ein Umstand, der erstaunlich ist, wenn man bedenkt, in welch vielseitiger Weise heute Wachstumsphysiologie betrieben wird.

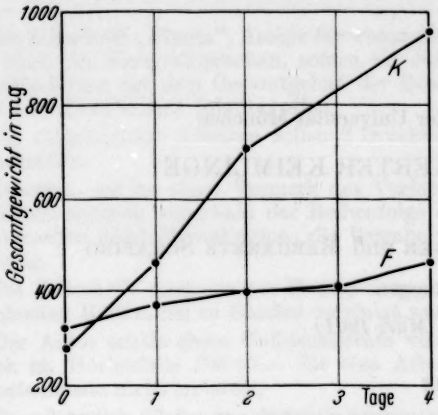


Abb. 1. Gewichtszunahme von *Helianthus*-Keimlingen nach Infiltration mit Leitungswasser. *F* Infiltrierte Pflanzen, *K* Kontrollen

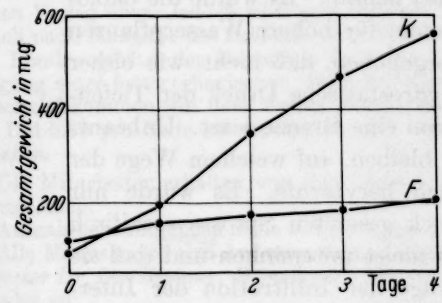


Abb. 2. Gewichtszunahme von *Helianthus*-Hypokotylen nach Infiltration

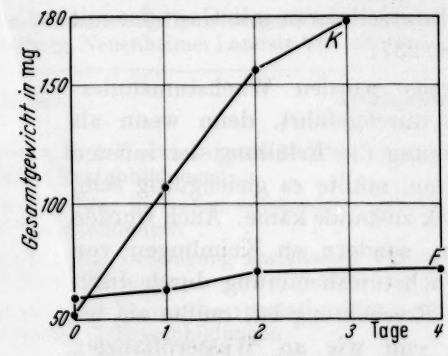


Abb. 3. Gewichtszunahme von *Helianthus*-Wurzeln nach Infiltration

Ergebnisse

I. Untersuchungen an Keimlingen von Helianthus annuus

Methodik. Die Sonnenblumenpflanzen wurden in üblicher Weise angekeimt und in Knopscher Nährlösung gezogen. Zur Infiltration wurden sie gebündelt in eine mit Leitungswasser gefüllte Saugflasche gebracht und diese an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen. Es wurden Unterdrucke von 463 und 686 mm angewendet. Wiederholtes Wiegen der abgetrockneten Keimlinge nach verschieden langer Infiltrationsdauer gab Auskunft über die Gewichtszunahme infolge der Verdrängung der Luft durch Wasser. Danach war die Wasseraufnahme in den ersten 20 min weitaus am stärksten, dauerte jedoch noch etwa 2 Std an. Erst nach dieser Infiltrationsdauer waren offenbar alle Gasräume mit Wasser gefüllt, so daß keine weitere Wasseraufnahme erfolgen konnte. Während der Infiltrationsversuche schwamm die gleiche Anzahl von Kontrollpflanzen unter Normaldruck im Wasser. Wichtig für den Infiltrationsvorgang ist, daß sich die Keimlinge beim Abschalten des Unterdruckes völlig unter Wasser befinden und nicht an der Wasseroberfläche schwimmen, da sonst Luft und nicht Wasser nachgesaugt wird. Das gilt vor allem für die Kotyledonen.

Als Maß für das Wachstum diente einerseits die Gewichtszunahme, die mittels Wägung auf der Torsionswaage festgestellt wurde, andererseits die Längenzunahme, wobei die Messung an Hypokotylen und Wurzeln getrennt erfolgte. Es wurde nicht geprüft, ob die Wachstumshemmung durch Infiltration sich vornehmlich auf das Teilungswachstum oder auf das Streckungswachstum bezieht.

In den einzelnen Organen des Keimlings sind bekanntlich die Interzellularräume sehr verschieden stark ausgebildet. So zeigten die Infiltrationsversuche, daß die Kotyledonen zu 30% ihres Volumens aus Interzellularen bestehen, die Hypokotyle dagegen nur zu 7%. Innerhalb der Hypokotyle ergaben

sich in der Längsrichtung jedoch nur geringe Unterschiede. So betrug das Luftvolumen der unteren — ausgewachsenen — Hälfte eines im ganzen 7,4 cm langen Hypokotyls 7,8%, das Volumen der oberen Hälfte, in der sich die Wachstumszone befand 6,9%.

Jeder Punkt der Kurven entspricht dem Mittel aus Messungen an 20 Keimlingen. Fehlerberechnungen erübrigten sich infolge der überaus großen Unterschiede zwischen Kontroll- (*K*) und Versuchspflanzen (*F*).

Gewichtszunahme und Wachstum nach der Infiltration. Wurden die Keimlinge nach der Infiltration wieder in die Wasserkulturen zurückgebracht und unter Normalbedingungen einige Tage weiterkultiviert, so ergaben die Messungen, die an ganzen Pflanzen sowie an ihren einzelnen Teilen durchgeführt worden waren, die in Abb. 1, 2 und 3 dargestellten Kurven. Es zeigt sich, daß innerhalb von 4 Tagen nach der Infiltration weder die Keimlinge als Ganze noch die Hypokotyle und Wurzeln eine nennenswerte Gewichtszunahme aufwiesen, wogegen die Kontrollen ihr Gewicht in hohem Maße vermehrten.

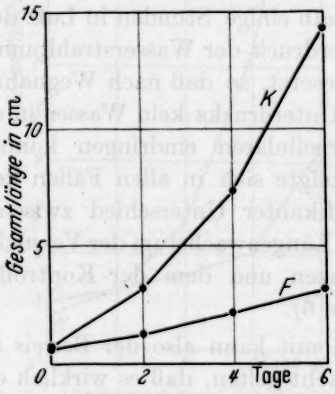


Abb. 4. Längenwachstum von *Helianthus*-Hypokotylen nach Infiltration

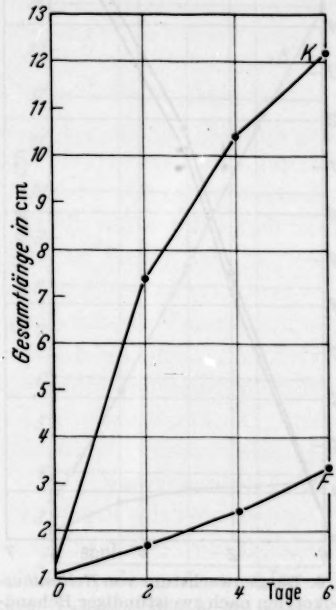


Abb. 5. Längenwachstum von *Helianthus*-Wurzeln nach Infiltration

Die geringe Gewichtszunahme der Keimlinge nach der Infiltration ist Ausdruck der Hemmung des Streckungswachstums. Wie aus den Abb. 4 und 5 zu ersehen ist, wird dieses herabgesetzt, wenn die Lufträume durch Wasser erfüllt sind. Dabei erweist sich diese Hemmung als abhängig von der Höhe des Unterdruckes sowie von der Länge der Hypokotyle bei der Infiltration. Wurden Keimlinge, deren Gesamtlänge unter 1 cm lag, bei einem Unterdruck von 463 mm infiltriert, so ergab

sich keine Wachstumshemmung, wogegen der Unterdruck von 686 mm sehr wirksam war. Wir müssen annehmen, daß in den jüngsten Stadien des Keimlings dessen Interzellularsystem noch so gering entwickelt war, daß es nur bei hohem Unterdruck zu infiltrieren war.

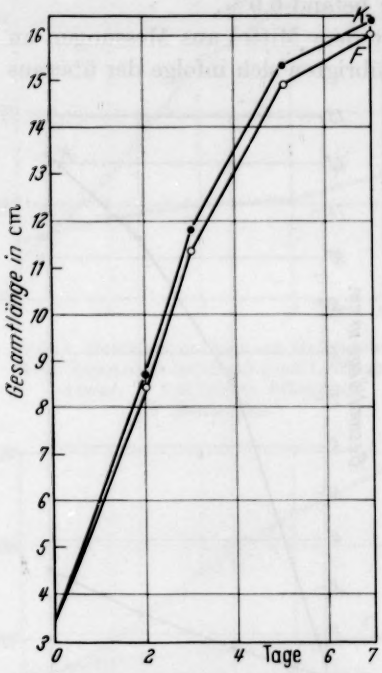


Abb. 6. Längenwachstum von *Helianthus*-Hypokotylen nach zweistündiger Behandlung mit Unterdruck von 686 mm ohne Infiltration. (Unterschiede nicht signifikant)

Anwendung von Unterdruck ohne Infiltration. Es mußte geprüft werden, ob die Infiltration und nicht etwa der Unterdruck selbst für die Wachstumshemmung verantwortlich war, obgleich dies von vornherein als unwahrscheinlich angesehen werden konnte. Die Keimlinge wurden deshalb einige Stunden in Luft dem Unterdruck der Wasserstrahlpumpe ausgesetzt, so daß nach Wegnahme des Unterdrucks kein Wasser in die Interzellularen eindringen konnte. Es zeigte sich in allen Fällen kein signifikanter Unterschied zwischen dem Längenwachstum der Versuchspflanzen und dem der Kontrollen (Abb. 6).

Somit kann also der Beweis als erbracht gelten, daß es wirklich die Infiltration ist, durch welche das Wachstum blockiert wird.

II. Untersuchungen an Keimlingen von Vicia faba

Methodik. Zur Untersuchung gelangten Keimlinge, die ein Alter von 4 bis 6 Tagen hatten. Nachdem sie 2—3 Std infiltriert worden waren, wurden sie in Nährlösung weitergezogen und nach bestimmten Zeitabschnitten gemessen. Aus der Gewichtszunahme bei der Infiltration konnte errechnet werden, wieviel Prozent des Pflanzenvolumens aus Lufträumen bestand. Für die einzelnen Organe ergaben sich die in Tabelle 1 zusammengestellten Werte.

Tabelle. *Volumprozente der Gasräume im Keimling von Vicia faba*

Hauptwurzeln	Seitenwurzeln	Epikotyle	Blattstiele	Blätter
9,6%	5,4%	8,9%	5,8%	28,7%

Das Wachstum infiltrierter Keimlinge. Die Ergebnisse der Wachstumsmessungen (Abb. 7 und 8) entsprachen genau jenen bei *Helianthus*.

In allen Fällen bedeutete die Infiltration eine krasse Herabsetzung der Wachstumsrate, und zwar bei den Wurzeln wie bei den Epikotylen. Eine Erholung trat innerhalb der Versuchszeit von 9 Tagen nicht ein, oft kam es in dieser Zeit zum Absterben der Wurzeln.

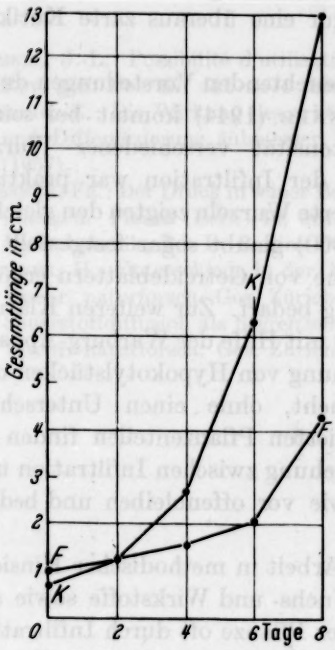


Abb. 7. Längenwachstum der Epikotyle von *Vicia faba* nach Infiltration

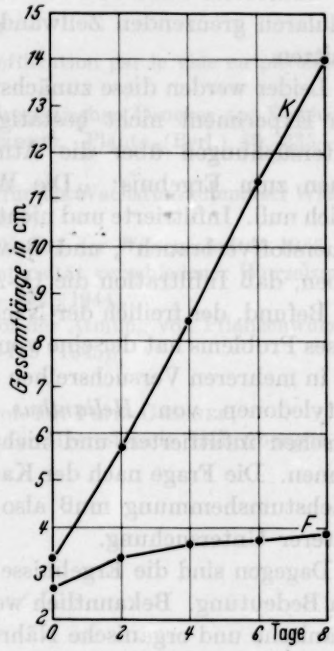


Abb. 8. Längenwachstum der Wurzeln von *Vicia faba* nach Infiltration

Diskussion

Die oben dargestellten Befunde, wonach Infiltration mit Wasser in allen Fällen eine starke Wachstumshemmung zur Folge hat, führen zur Frage, wie wir uns den Wirkungsmechanismus der Infiltration vorzustellen haben. Die nächstliegende Antwort, die sich hierbei bietet, bezieht sich auf die enge Abhängigkeit des Wachstums von der Atmung. Bekanntlich haben Meristeme eine hohe Atmungsintensität und dementsprechend einen großen O_2-Bedarf. Da sich im Inneren pflanzlicher Gewebe der Sauerstoff nur auf dem äußerst langsamen Diffusionsweg zu den Verbrauchsstellen bewegt (WANNER 1945), kann es hier leicht zu O_2-Mangel kommen, wogegen ein solcher nicht zu erwarten ist, wenn das Gewebe durch gasgefüllte Interzellularen aufgelockert ist, die mit der Außenluft in Verbindung stehen. Der Sauerstoff erreicht dann die Oberfläche der Mesophyllzellen mit einer um mehrere Zehnerpotenzen größeren Geschwindigkeit, die für die Diffusion in Gasen charakteristisch

ist. Eine Infiltration mit Wasser würde nun gewissermaßen die innere Oberfläche des Gewebes ausschalten, und die Zellen würden jetzt nur durch eine mehrminder dicke Flüssigkeitsschicht mit Sauerstoff versorgt werden. Dazu kommt, daß die äußere, stark kutinisierte Oberfläche für Sauerstoff wahrscheinlich weniger durchlässig ist als die an Interzellularen grenzenden Zellwände, die nur eine überaus zarte Kutikula besitzen.

Leider werden diese zunächst so einleuchtenden Vorstellungen durch das Experiment nicht bestätigt. Wanner (1944) kommt bei seinen Untersuchungen über die Atmungsintensität verschiedener Wurzelzonen zum Ergebnis: „Die Wirkung der Infiltration war praktisch gleich null. Infiltrierte und nicht infiltrierte Wurzeln zeigten den gleichen Sauerstoffverbrauch", und Bomsel (1960) glaubt sogar festgestellt zu haben, daß Infiltration die O_2-Aufnahme von Getreideblättern erhöhe, ein Befund, der freilich der Nachprüfung bedarf. Zur weiteren Klärung dieses Problems hat der eine von uns (*G*) mit Hilfe der Warburg-Apparatur in mehreren Versuchsreihen die Atmung von Hypokotylstücken und Kotyledonen von *Helianthus* untersucht, ohne einen Unterschied zwischen infiltrierten und nicht infiltrierten Pflanzenteilen finden zu können. Die Frage nach der Kausalbeziehung zwischen Infiltration und Wachstumshemmung muß also nach wie vor offenbleiben und bedarf weiterer Untersuchung.

Dagegen sind die Ergebnisse dieser Arbeit in methodischer Hinsicht von Bedeutung. Bekanntlich werden Wuchs- und Wirkstoffe sowie anorganische und organische Nährstoffe der Pflanze oft durch Infiltration zugeführt, und seit langem wird die Frage diskutiert, wieweit dies zulässig sei (Literatur bei Bomsel 1960). Soweit es sich hierbei um wachsende Pflanzenteile handelt, scheint uns diese Methode nicht oder nur mit größtem Vorbehalt anwendbar zu sein, da ein Organ, das durch Infiltration fast völlig in seinem Wachstum gehemmt ist, nicht als normal angesehen werden kann.

Zusammenfassung

Werden Keimlinge von *Helianthus annuus* und *Vicia faba* mittels einer Wasserstrahlpumpe mit Wasser infiltriert, so führt dies sofort in allen Organen der Pflanze zu einer sehr starken und mitunter völligen Hemmung des Wachstums. Wirkt der Unterdruck in Luft ein, so daß es hernach zu keiner Wasserfüllung der Interzellularen kommt, so unterbleibt jede Wachstumshemmung.

Die Frage nach der Kausalbeziehung zwischen Infiltration und Wachstumshemmung konnte nicht geklärt werden, da die nächstliegende Annahme, Infiltration führe zu einer Atmungshemmung, durch das Experiment nicht bestätigt werden konnte.

Es wird darauf hingewiesen, daß die Zufuhr von Wirk- oder Nährstoffen durch Infiltration eine Methode ist, die in wachsenden Organen nur mit großem Vorbehalt angewendet werden darf, da eine im Wachstum weitgehend gehemmte Pflanze sich in einem anomalen Zustand befindet.

Literatur

Bomsel, J.-L.: Possibilité d'utilisation de l'infiltration par le vide en physiologie Rev. gén. Bot. **67**, 441—474 (1960).

Ferling, E.: Die Wirkung des erhöhten hydrostatischen Druckes auf Wachstum und Differenzierung submerser Blütenpflanzen. Planta (Berl.) **49**, 235—270 (1957).

Gessner, Fr.: Der Druck in seiner Bedeutung für das Wachstum submerser Wasserpflanzen. Planta (Berl.) **40**, 391—397 (1952).

— Hydrobotanik, Bd. I. Berlin: Deutscher Verlag der Wissenschaften 1955.

Wanner, H.: Unterschiede in der Atmungsintensität verschiedener Wurzelzonen. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **89**, 285—287 (1944).

— Sauerstoffdiffusion als begrenzender Faktor der Atmung von Pflanzenwurzeln. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **90**, 98—119 (1945).

Prof. Dr. Fritz Gessner,
Kiel, Institut für Meereskunde, Hohenbergstr. 2

Planta 57, 8—12 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

EINE IN KULTUR ENTSTANDENE DIPLOIDE PFLANZE VON *DRYOPTERIS FILIX-MAS*

Von

W. Döpp

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. März 1961)

Einleitung

Normalerweise ist *Dryopteris filix-mas* tetraploid mit 164 Chromosomen im Sporophyten (Döpp 1932, Manton 1950). Nach I. Manton und S. Walker (1954) ist diese Art ebenso wie *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray allotetraploid. Die Autoren begründen diese Auffassung mit der fehlenden Chromosomenpaarung in den Sporenmutterzellen einer in ihren Kulturen apogam entstandenen diploiden Pflanze ($2n = 82$) von *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott und einer ebensolchen von *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray. — Mir selbst war es kurz vor dem Kriege gelungen, eine diploide Pflanze von *Dryopteris filix-mas* zu erhalten. Sie entstand in meinen Kulturen nach einer Behandlung von Sporen abwechselnd mit Kälte und Wärme, die ich vornahm, um Varianten zu erhalten. Die dabei auftretenden abweichenden Formen gingen aber während des Krieges zugrunde bis auf eine, nämlich die hier beschriebene. Es ist nicht sicher, ob die Entstehung der diploiden Form auf die Kälte-Wärme-Behandlung zurückzuführen ist, jedoch dürfte es wahrscheinlich sein, da nach der Behandlung im Gegensatz zur Kontrollaussaat auch sonstige Varianten entstanden. Ausgeschlossen ist natürlich nicht, daß eine solche Genommutation auch spontan auftreten kann. Erwähnt sei noch, daß Rottmann (1938) nach Röntgenbestrahlung einzelliger Keimlinge von *Dryopteris filix-mas* auf einem Prothallium ein „Pflänzchen" erhielt, das in seiner Anatomie eine Zwischenbildung zwischen Prothallium und Sporophyt war.

Entstehung und Entwicklung der diploiden Pflanze

Die Behandlung der Sporen wurde folgendermaßen vorgenommen:

Sporen von *Dryopteris filix-mas* wurden am 10. 5. 37 in ein Reagensglas mit etwas Wasser gebracht. Das Reagensglas wurde am 10. 5., 12. 5. und 13. 5. 37 im Verlauf von jeweils 2—3 Std, im ganzen 40mal, abwechselnd in eine Kältemischung (Eis + Kochsalz) und Wasser von 45° getaucht. Die Aussaat erfolgte am 15. 5. 37 auf Agar-Agar.

Auf einem der aus den behandelten Sporen hervorgegangenen Prothallien entstand zunächst ein vegetativer Auswuchs. Aus diesem entwickelte sich anscheinend apogam ein von zahlreichen Schuppen umhülltes und dadurch sehr auffälliges Pflänzchen. Sehr bemerkenswert war ferner, daß schon die ersten Blätter viel mehr als im Normalfall sehr stark zerteilt waren. Aus der später festgestellten Diploidie geht hervor, daß ein Befruchtungsvorgang nicht zur Entstehung der Pflanze geführt haben kann. Nicht ausgeschlossen wäre Parthenogenesis; da diese aber bei Farnen selten vorkommt, dürfte Apogamie, d. h. Entstehung der Pflanze aus einer oder mehreren vegetativen Zellen des Gametophyten, das wahrscheinlichere sein. Zahlreiche Fälle sind bekannt, in denen unter besonderen Kulturverhältnissen, z. B. bei Kultur während längerer Zeit in hellem Licht und bei höherer Temperatur, Prothallien von verschiedenen Arten apogame Pflänzchen bildeten [Lang (1898), weitere Beispiele bei Bower (1923), Ernst (1918), Manton (1950)]; man spricht hierbei von induzierter oder auch fakultativer Apogamie. Es wäre im vorliegenden Falle möglich, daß durch den schnellen Wechsel der Temperaturen Apogamie induziert worden sein könnte und zwar schon auf einem sehr frühen Stadium.

Abb. 1. Fiederblätter aus dem mittleren Blatteil, links von normaler tetraploider *Dryopteris filix-mas*, rechts von der diploiden Pflanze. Verkl. auf $^2/_3$

Die ältere Pflanze wurde vegetativ vermehrt. Teils erfolgte Kultur im Topf, teils im Freiland. Die Blätter der nun schon seit Jahren erwachsenen Pflanzen waren stets kleiner als die von normaler *Dryopteris filix-mas*. In Vergleichsmessungen betrug die Blattlänge nicht mehr als 55 cm, bei normaler, im Garten kultivierter *Dryopteris filix-mas*

bis zu 96 cm. Das Blatt erscheint in seiner Fiederung feingliedriger als das Blatt der tetraploiden Pflanze und auch der von Manton und Walker beschriebenen diploiden *Dryopteris filix-mas* (Abb. 1).

Keimungsverhältnisse der Sporen der diploiden Pflanze

Die Blätter erzeugen Sporangien und Sporen. Zahlreiche Aussaatversuche mit großen Sporenmengen wurden in verschiedenen Jahren gemacht, jedoch wurde nie Keimung beobachtet. Die Sporen zeigen in ihrer Ausbildung stets große Unregelmäßigkeiten und sind kleiner als diejenigen der normalen Pflanze. Die diploide Pflanze ist also vollkommen steril.

Über die Keimfähigkeit der Sporen der diploiden Pflanze von *Dryopteris filix-mas* sagen Manton und Walker nichts aus, auch nicht über die auf Blättern erzeugten Sporen von *Dryopteris dilatata*. Nur von den Sporen aus solchen Sporangien, die bei *Dryopteris dilatata* direkt auf dem Prothallium gebildet wurden, geben sie an, daß sie nicht keimfähig seien.

Cytologische Befunde

Nach Zählungen an Wurzelspitzen und an Sporenmutterzellen im Stadium der Diakinese ergaben sich $2n = 82$ Chromosomen. Es liegt also Diploidie vor. Quetschpräparate von Sporangien (Färbung mit Carminessigsäure) oder Schnitte, die mit Hämatoxylin-Heidenhain gefärbt waren, zeigten die typischen Bilder univalenter Chromosomen. Manton und Walker (1954) beobachteten außer Univalenten auch einige Bivalente; ich selbst stellte nur Univalente fest.

Gewinnung fertiler Sporen mit Hilfe von Colchicin

Ich versuchte, durch Behandlung mit Colchicin fertile Sporen zu erhalten. Dabei war für mich von besonderem Interesse die Frage, wie sich die Prothallien fortpflanzen würden, ob sie wiederum die gleiche abweichende, vermutlich apogame Fortpflanzung haben würden wie das Ausgangsprothallium, auf dem die diploide Pflanze entstanden ist. Im Mai 1959 besprühte ich Blätter mit Sporangien an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen mit Hilfe eines Zerstäubers mit einer 0,2%igen Colchicin-Lösung, besonders auf ihrer Unterseite. Die meisten Sporangien befanden sich dabei auf den Stadien des einzelligen Archespors bis zum 16zelligen sporogenen Gewebe.

Von den nach dieser Behandlung erhaltenen Sporen war ein sehr geringer Prozentsatz keimfähig. Die Sporen von unbehandelten Blättern, die zur Kontrolle mit ausgesät wurden, erwiesen sich wiederum als vollkommen steril.

Die Prothallien und ihre Fortpflanzung

Die nach Colchicinbehandlung erhaltenen Prothallien zeigten wenig Auffälliges. Nur waren sie im Gegensatz zu den regelmäßigen, herzförmigen Prothallien von *Dryopteris filix-mas* am Rande stark zerteilt und mit tiefen Einbuchtungen oder Schlitzen versehen (Abb. 2). Auffällig war ferner das besonders häufige Auftreten von Reihen chlorophyllarmer, langgestreckter Zellen oder von breitflächigen, weißen Gewebekomplexen, die gelegentlich auch an Prothallien der Normalform auftreten. Antheridien und Archegonien waren vorhanden. In keinem Fall wurden apogame Auswüchse beobachtet, auch nicht nach längerer Kultur der Prothallien bis zum jetzigen Zeitpunkt.

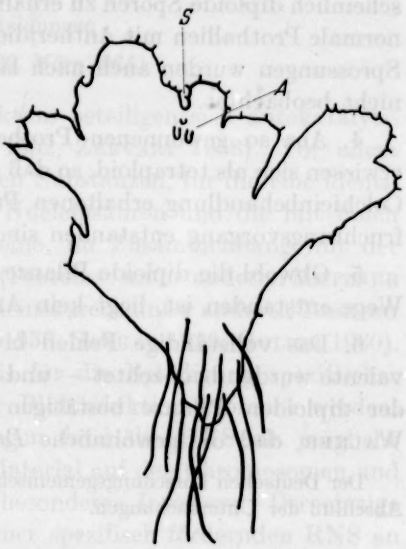


Abb. 2. Prothallium, aus einer Spore der diploiden Pflanze nach Colchicinbehandlung eines Blattes hervorgegangen. *S* = Scheitelbucht, dahinter Archegonien (*A*). Vergr. 12 ×.

Anscheinend auf sexuellem Wege gingen aus den Prothallien zahlreiche Pflänzchen hervor. Die Zählung an Wurzelspitzen ergab, daß die neu entstandenen Pflänzchen wiederum tetraploid sind. Offenbar waren die nach Colchicinbehandlung erhaltenen Sporen und die daraus hervorgegangenen Prothallien diploid, so daß durch einen normalen Befruchtungsvorgang eine tetraploide Pflanze entstehen konnte. Dafür sprechen auch Messungen an Schließzellen: Die Länge derselben beträgt nach je 40 Messungen bei der diploiden Pflanze 44,6 μ, bei den nach Colchicinbehandlung entstandenen Nachkommen 52,6 μ. Eine andere Messung führte zu einem ganz ähnlichen Ergebnis. Bei zwei gewöhnlichen tetraploiden Pflanzen von *Dryopteris filix-mas* wurden 52,8 bzw. 55,2 μ gemessen. Somit ergibt sich, daß die abweichende Fortpflanzungsweise, wahrscheinlich induzierte Apogamie, die zur Entstehung der diploiden Pflanze führte, nur vorübergehend und nur einmalig aufgetreten ist und daß somit keine erbliche Apogamie vorliegt. Auch andere Fälle, in denen von künstlich herbeigeführter Apogamie berichtet wird, müßten daraufhin untersucht werden, ob nicht durch die besonderen Kulturbedingungen eine Auslese von Formen erfolgt ist, die auf Grund erblicher Veranlagung apogam sind.

Zusammenfassung

1. Nach Behandlung von Sporen von *Dryopteris filix-mas* mit höherer und niederer Temperatur (unter 0°, 45°) in raschem Wechsel und wahrscheinlich infolge dieser Behandlung entstand, vermutlich auf apogamem Wege, eine diploide Pflanze.

2. Die diploide Pflanze ist vollkommen steril.

3. Durch Colchicinbehandlung der Blätter gelang es, fertile, wahrscheinlich diploide Sporen zu erhalten. Daraus gingen anscheinend ganz normale Prothallien mit Antheridien und Archegonien hervor. Apogame Sprossungen wurden auch nach längerer Kultur an diesen Prothallien nicht beobachtet.

4. Aus so gewonnenen Prothallien hervorgegangene Sporophyten erwiesen sich als tetraploid, so daß anzunehmen ist, daß sie aus den nach Colchicinbehandlung erhaltenen Prothallien durch einen normalen Befruchtungsvorgang entstanden sind.

5. Obwohl die diploide Pflanze höchstwahrscheinlich auf apogamem Wege entstanden ist, liegt kein Anzeichen für erbliche Apogamie vor.

6. Das vollständige Fehlen bivalenter Chromosomen — nur Univalente wurden beobachtet — und die vollkommene Sporensterilität bei der diploiden Pflanze bestätigen die Auffassung von Manton und Walker, daß die gewöhnliche *Dryopteris filix-mas* allotetraploid ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für ihre Unterstützung beim Abschluß der Untersuchungen.

Literatur

Bower, F. O.: The Ferns, vol. 1. Cambridge 1923.

Döpp, W.: Die Apogamie bei *Aspidium remotum* Al. Br. Planta (Berl.) **17**, 86—152 (1932).

Ernst, A.: Bastardierung als Ursache der Apogamie im Pflanzenreich. Jena 1918.

Lang, W. H.: Apogamy and the development of sporangia on prothalli. Phil. Trans. B **190**, 187—238 (1898).

Manton, Irene: Problems of cytology and evolution in Pteridophyta. Cambridge 1950.

—, and S. Walker: Induced apogamy in *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray and *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott emend. and its significance for the interpretation of the two species. Ann. Botany, N.S. **18**, 377—383 (1954).

Rottmann, W.: Versuche zur Gewinnung abweichender Formen mit Farnsporen und Gametophyten. Diss. Marburg 1938.

Prof. Dr. W. Döpp,
Marburg a. d. Lahn, Hans Sachs-Str. 9

Planta 57, 13—28 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DIE BETEILIGUNG SPEZIFISCHER RIBONUCLEINSÄURE AN DER BLÜHINDUKTION* **

Von

DIETER HESS

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. März 1961)

An den Vorgängen der Blühinduktion beteiligen sich autokatalytische Prozesse (unter anderen LANG 1952, ZEEVART 1958). Vor allem diese Erkenntnis war Anlaß, diejenigen Substanzen, für die eine identische Reproduktion bekannt ist, die Nucleinsäuren und die mit ihnen in enger Beziehung stehenden Proteine, im Zusammenhang mit der Blühinduktion näher zu untersuchen (Proteine: unter anderen METZNER 1955, AACH und MELCHERS 1959; Nucleinsäuren: unter anderen TASHIMA und IMAMURA 1954, FINCH und CARR 1956, SARKAR 1959, GULICH 1960). Doch konnte kein eindeutiger Beweis für die Beteiligung spezifischer Nucleinsäuren bzw. Proteine an der Blühinduktion erbracht werden.

Bei den erwähnten Untersuchungen fand die RNS als mögliche Mittlerin zwischen dem genetischen Material auf den Chromosomen und der Eiweißsynthese im Cytoplasma besonderes Interesse. Der einzige direkte Beweis für die Beteiligung einer spezifisch fördernden RNS an der Blühinduktion wäre nun zweifellos eine Blütenauslösung durch RNS-Übertragung von blühenden auf vegetative Pflanzen. Solange eine derartige spezifische Förderung aber problematisch bleibt (vgl. hierzu KESSLER 1958), mag es aussichtsreicher erscheinen, den umgekehrten Weg, den einer spezifischen Hemmung, einzuschlagen. So konnten SALISBURY und BONNER (1960) bei *Xanthium* den induktiven Effekt der Dunkelperiode durch Applikation von 5-Fluor-Uracil beseitigen. Orotsäure hebt die Blühhemmung durch 5-Fluor-Uracil wieder auf. Fluor-Uracil greift sowohl in die Synthese der RNS als auch der DNS hemmend ein (COHEN et al. 1958) und Orotsäure ist Zwischenglied der Synthese aller Pyrimidinnucleotide. Wenn somit die Versuchsergebnisse auch die Mitwirkung von Nucleinsäuren an den induktiven Prozessen nahelegten, konnte doch nicht entschieden werden, ob es sich dabei um DNS, RNS oder beide Nucleinsäuren handelte.

* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. F. OEHLKERS, möchte ich herzlich für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit danken.

** Gekürzte Teilfassung einer Habilitationsschrift der Naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

Inzwischen ließen sich in Hemmversuchen an *Streptocarpus wendlandii* erste Indizien für die Beteiligung spezifischer RNS an der Blühinduktion gewinnen. Über einen Teil der Versuche wurde bereits berichtet (HESS 1959).

Material und Methoden

Versuchsobjekt. Nahezu alle Versuche wurden mit *Streptocarpus wendlandii* „München" durchgeführt. Nur zu einigen Stecklingsversuchen wurde der heterotische Bastard *Str. vandeleurii* × *michelmorei* herangezogen. Beide Formen sind unifoliat (genaue Beschreibungen verschiedener Arten der Gattung *Streptocarpus* bei OEHLKERS 1938, 1957).

Blühinduktion. Die Blühinduktion wurde in Klimakammern durchgeführt (zu den Induktionsbedingungen vgl. OEHLKERS 1956, HESS 1959). Vor und nach der Induktion wurden die Pflanzen bei 22—25° unter den natürlichen Lichtverhältnissen im Gewächshaus gehalten. Alle Versuche fanden im Winterhalbjahr statt. Im folgenden werden die induktiven Klimakammerbedingungen als induktive Bedingungen, die Gewächshaus-Bedingungen als nichtinduktive Bedingungen bezeichnet.

Nur blühreife Pflanzen von 30—40 cm Blattlänge wurden zu den Versuchen verwendet. Falls nicht anders erwähnt, bestand jeder einzelne Versuchsansatz aus fünf Exemplaren. Alle wesentlichen Versuchsreihen wurden wiederholt.

Behandlung mit Chemikalien. Die Applikation von Chemikalien erfolgte durch Aufsprühen auf die Blattoberfläche. In jeder Induktionswoche wurde einmal besprüht (pro Pflanze je 10 ml aqua dest., in denen die betreffenden Substanzmengen gelöst waren). Aufgesprühte Agentien: IES (C. Merck), d,l-Äthionin (Fluka), GS (10% Gibberellinsäure in Kaliumphosphaten, C. Roth, Karlsruhe; alle Mengenangaben beziehen sich auf die tatsächlich applizierte GS, nicht das phosphathaltige Gesamtpräparat).

Quantitative Analysen. Da die Perchlorsäure-Fraktionierung in der ursprünglichen Ausführung nach OGUR und ROSEN (1950) nicht in jedem Fall den gestellten Anforderungen entspricht (KERN 1959, LORENZEN und RUPPEL 1959), erfolgte die Aufarbeitung des Pflanzenmaterials auf DNS, RNS und Protein nach der Methode von HOLDEN (1952, für die Einzelheiten vgl. HESS 1959), die gut vergleichbare Werte lieferte. Die quantitativen Angaben sind mit wenigen Ausnahmen Mittelwerte, die durch gleichzeitige Aufarbeitung von fünf Pflanzen in zwei Arbeitsgängen gewonnen wurden.

Alle chemischen Veränderungen finden in der lebenden, wasserhaltigen Zelle statt. Deshalb und auch um den Anschluß an eine frühere Arbeit zu gewährleisten, wurde das Frischgewicht als Bezugsgröße gewählt. Eine derartige Bezugnahme ist bei *Streptocarpus* möglich, weil bei Pflanzen unter gleichen Bedingungen aus den gleichen Frischgewichtsmengen auch gleiche Trockengewichtsmengen gewonnen werden konnten. Umrechnungen auf das Trockengewicht als Bezugsgröße wurden durchgeführt. Gleichheit oder Verschiedenheit der ermittelten Werte bleiben dabei bestehen, werden also keinesfalls durch unkontrollierbare Schwankungen des Wassergehaltes vorgetäuscht. Nur können sich, wie leicht einzusehen ist, unter Umständen die Verhältnisse bei der Wahl der anderen Bezugsgröße umkehren.

Darstellung eines Nucleinsäuren-Eiweiß-Präparates. Spaltungen mittels Ribonuclease und elektrophoretische Auftrennungen sind an zu sehr denaturierten Präparaten wenig sinnvoll. Infolgedessen sollten die RNS-Präparate schnell und doch schonend gewonnen werden, was im gegebenen Fall eine völlig reine

Darstellung ausschloß. Im folgenden Arbeitsgang wird die Phenolmethode (SCHUSTER, SCHRAMM und ZILLIG 1956) unter Berücksichtigung neuerer Befunde von ENGLER und SCHRAMM (1960) modifiziert:

75 g Frischmaterial aus dem basalen Blattviertel wurden unter Kühlung 2 min mit 150 ml einer eiskalten Phenol-Phosphatpuffer-Mischung (Phenol 80%: Phosphatpuffer nach SÖRENSEN 0,15 m, p_H 7,4, 1:1, v:v) homogenisiert. Das Homogenat wurde 20 min unter ständigem Rühren (Magnetrührer) bei $+4^0$ gehalten und dann in der Tiefkühlzentrifuge (Christ Universal-Rapid) 1 min bei 12000 g zentrifugiert. Da die Präparate auch nach mehrmalig wiederholtem Ausschütteln mit Phenol noch Eiweiß enthielten, wurde auf die Nachbehandlung mit Phenol verzichtet. Aus dem durch das Zentrifugieren erhaltenen Überstand wurde deshalb das Phenol sofort durch Ausschütteln mit Äther entfernt. Anschließend wurde die wäßrige Phase in das doppelte Volumen Alkohol 96% gegossen. Der entstehende fädige Niederschlag wurde aus der Flüssigkeit mit einer kleinen Drahtbürste herausgezogen, zweimal in Alkohol 96%, dann in Aceton und Äther gewaschen und schließlich im Exsiccator über Silikagel im Eisschrank bei $+2^0$ aufbewahrt. Ausbeute an Trockenpulver pro Gramm Frischgewicht: aus blühenden Pflanzen 1,27 mg, aus vegetativen Pflanzen 3,13 mg. Der RNS-Gehalt der Präparate wurde mit der Orcin-Reaktion (vgl. MARKHAM 1955), der DNS-Gehalt nach DISCHE mit Diphenylamin und nach STUMPF mit Cysteinhydrochlorid bestimmt (vgl. CHARGAFF-DAVIDSON, Bd. 1, 1955). Als Standard dienten Präparate der Firma C. Roth, Karlsruhe.

Salzsaure Hydrolyse des Nucleinsäuren-Präparates, Papierchromatographie und Spektrophotometrie erfolgten nach MARKHAM (1955). Uridyl- und Thymidylsäure lassen sich durch das zur Papierchromatographie verwendete Isopropanol-Salzsäure-Gemisch (vgl. MARKHAM 1955) nicht scharf voneinander trennen und wurden deshalb gemeinsam bestimmt. Die Methode gestattet eine quantitative Bestimmung der Purine und Pyrimidin-Nucleotide auch dann, wenn in dem Ausgangspräparat Eiweiß vorhanden war.

Versuche mit radioaktivem Äthionin. Applikation: Auf die Blattbasis von zwei induzierten, stark wachsenden Pflanzen wurden je 0,25 mc d,l-Äthionin (Äthyl-1-C^{14}, Richmond, Cal.) mit einer Pipette aufgeträufelt. Die gleiche Behandlung wurde nach 24 Std wiederholt, so daß jede Pflanze insgesamt 0,5 mc Äthionin-C^{14} erhielt.

Darstellung eines Eiweiß-Trockenpulvers: 8 Tage nach der Behandlung wurde Frischmaterial von der Blattbasis mit Alkohol 80%, enthaltend 1% Perchlorsäure, homogenisiert und anschließend mit Alkohol 96%:Äther 3:1 bis zur Farblosigkeit der Waschflüssigkeit gewaschen. Nach weiterem Waschen mit Aceton und Äther wurde im Exsiccator über Silikagel bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Hydrolyse und Papierchromatographie des Trockenpulvers: Die Hydrolyse erfolgte salzsauer nach den Angaben METZNERS (1955). Die salzsaure Phase des Hydrolysates wurde in aqua dest. überführt. Papierchromatographie: auf Schl. & Sch. 2043b Mgl absteigend in n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5 und 4:1:1) und aufsteigend in n-Butanol-Ameisensäure-Wasser (695:15:290, vgl. HAIS und MACEK 1958). Da die R_f-Werte der Aminosäuren in den Hydrolysaten von den Literaturwerten etwas abwichen, wurde im Vergleich Äthionin stets zusammen mit etwas Hydrolysat chromatographiert.

Hochspannungselektrophorese. Hochspannungselektrophoresen des Eiweißhydrolysates wurden mit Hilfe des Pherographen Original Frankfurt nach WIELAND durchgeführt. Papier: Macherey, Nagel & Co. 214, Dauer 50 min bei 50 V/cm, p_H-Wert 1,9 (Ameisensäure-Eisessig-Wasser 150:100:750). Lokalisierung der Aminosäuren mit Ninhydrin, Zusammensetzung vgl. LINSKENS (1959).

Messung der Radioaktivität. Die Chromatogramme bzw. Pherogramme wurden in Stücke geschnitten, die in der früher angegebenen Gerätekombination (HESS 1959) auf ihre Radioaktivität hin getestet wurden. Teils wurden gleich große Papierstücke ohne Berücksichtigung der in ihnen enthaltenen Aminosäuren, teils verschieden große Papierstücke mit bestimmten Aminosäuren untersucht.

Stecklingsversuche. Fünf Tage nach Abschluß der Blühinduktion wurden *Streptocarpus*-Blätter in Stücke von 4,0 × 3,5 cm Größe zerschnitten. Die längere Kante verlief dabei parallel zur Mittelrippe. Alle Blattstücke wurden mit der der Mittelrippe zugewendeten Seite gesteckt. Behandlungen mit Ribonuclease usw. erfolgten durch Einlegen der Stecklinge in die betreffenden Lösungen. In diesen Fällen wurden die Stecklinge zunächst gründlich mit Leitungswasser gewaschen und kamen erst dann zum Stecken. Die Kultur der Stecklinge erfolgte im Gewächshaus in Stecklingserde bei 22—25° unter den natürlichen Lichtverhältnissen.

Abkürzungen. GS = Gibberellinsäure, IES = Indol-3-essigsäure, DNS = Desoxyribonucleinsäure, RNS = Ribonucleinsäure, *Str.* = *Streptocarpus*, UDPG = Uridindiphosphatglucose, A = Adenin, G = Guanin, C = Cytosin, U = Uracil, T = Thymin, P = Phosphor, N = Stickstoff.

Ergebnisse

I. Der Einfluß von Ribonuclease auf die Regenerationsleistungen von Blattstecklingen von Streptocarpus

Zunächst mußte untersucht werden, ob sich RNS überhaupt an morphogenetischen Prozessen bei *Str.* zu beteiligen vermag. Zwar wurde eine Beteiligung von RNS an Wachstum und Morphogenese auch für höhere Pflanzen bereits bewiesen oder wahrscheinlich gemacht (vgl. BRACHET 1957, WEBSTER 1958; BER 1949, HÖHN 1955, KESSLER 1958), doch ist die Zahl der Untersuchungen im Vergleich zu denen bei Viren und bei *Acetabularia* gering.

Zu den Stecklingsversuchen wurde zunächst der Bastard *Str. vandeleurii* × *michelmorei* herangezogen. Bastarde innerhalb der Gattung *Str.* regenerieren auf Grund ihrer Heterosis besonders gut (BEUTTEL 1940, OEHLKERS 1956, HENGST 1959). Blattstücke aus den basalen Hälften induzierter Blätter wurden 4 oder 8 Std lang mit Ribonuclease (0,2 mg/ml, Boehringer) in aqua dest. bzw. mit aqua dest. allein behandelt und dann gesteckt. Zwei oder drei von jeweils 50 Stecklingen eines Versuchsansatzes gingen ein. Bezugsgröße bei den folgenden Angaben ist die Zahl aller ursprünglich gesetzten Stecklinge.

a) Das Erscheinen der oberirdischen Regenerate. Die Zahl der Stecklinge, die oberirdische Regenerate in Form von Blättern oder Inflorescenzen bilden, ist anfänglich in den mit Ribonuclease behandelten Reihen geringer als bei den Kontrollen. Allmählich aber holen die behandelten Stecklinge den Vorsprung der Kontrollen ein. Betrachtet man die Stecklinge mit Inflorescenz-Regeneration für sich, so findet sich im einen Fall ein entsprechender Kurvenverlauf, während in der anderen Versuchsreihe bei Abschluß des Versuches im Ribonuclease-Ansatz die Zahl der blütenbildenden Stecklinge noch geringer war (Abb. 1a, b).

b) Trockengewichtsbestimmungen der Regenerate. Wie eine Trockengewichtsbestimmung der Regenerate zeigt, ist selbst bei Zahlengleichheit

der regenerierenden Stecklinge in den einzelnen Ansätzen doch noch die *Masse* an Regeneraten bei den Ribonuclease-Stecklingen geringer als bei den Kontrollen (Tabelle 1).

Die geschilderten Effekte sind nicht auf eine unspezifische Eiweiß-Wirkung der Ribonuclease zurückzuführen. Zunächst ist zu bedenken, daß aus den Schnittflächen aller, auch der Kontrollstecklinge, aus den zerstörten Zellen sowieso Eiweiß freigesetzt wird. Dennoch wurden Versuche zur Klärung dieser Frage angesetzt:

Stecklinge aus induzierten Exemplaren von *Str. wendlandii* wurden 6 Std lang mit gleichen Mengen (je 0,15 mg/ml) an Ribonuclease, hitzeinaktivierter Ribonuclease (2 Std im strömenden Dampf) und Eieralbumin in Aqua dest. behandelt.

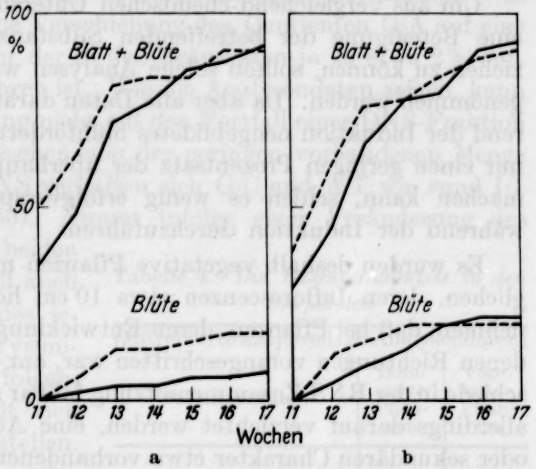


Abb. 1 a u. b. Ribonuclease und Regeneratbildung. Abszisse: Wochen nach Stecken. Ordinate: Regenerierende Stecklinge in Prozent der Gesamtstecklingszahl. Blatt = Stecklinge mit Regeneratblättern, Blüte = Stecklinge mit Regeneratinflorescenzen; – – – Aqua dest.-Kontrollen; ——— Ribonuclease-Stecklinge. Links (1a) nach 4, rechts (1 b) nach 8 Std Behandlung

Tabelle 1. *Regenerattrockengewicht in Milligramm/Steckling*

Bestimmung 17 Wochen nach Stecken.

Behandlung		Art der Regenerate	
		Blätter und Inflorescenzen	Inflorescenzen
4 Std	Ribonuclease 0,2 mg/ml	87	9
	aqua dest.	93	22
8 Std	Ribonuclease 0,2 mg/ml	67	23
	aqua dest.	87	27

Stecklinge, die mit Eieralbumin oder mit inaktivierter Ribonuclease behandelt worden waren, verhielten sich wie aqua dest.-Stecklinge. Die mit Ribonuclease behandelten Stecklinge blieben demgegenüber auch in dieser Versuchsreihe in der Bildung von Blatt- und Inflorescenz-Regeneraten zurück. Die Störung der Regenerat-Bildung beruht demnach auf den fermentativen Eigenschaften der Ribonuclease.

Ribonuclease ist ein hochspezifisches Ferment. Der Ausfall der Versuche mit diesem Agens demonstriert deshalb, daß sich RNS — ganz gleich welcher Art — an morphogenetischen Prozessen bei *Str.* zu beteiligen vermag.

II. Vergleichend-chemische Analysen der RNS-Zusammensetzung in induzierten und vegetativen Pflanzen

Um aus vergleichend-chemischen Untersuchungen Rückschlüsse auf eine Beteiligung der betreffenden Substanzen an der Blühinduktion ziehen zu können, sollten solche Analysen während der Induktion vorgenommen werden. Da aber alle Daten darauf hinwiesen, daß ein während der Induktion neugebildetes blühfördernd wirkendes RNS-System nur einen geringen Prozentsatz der überhaupt vorhandenen RNS ausmachen kann, schien es wenig erfolgversprechend, solche Analysen während der Induktion durchzuführen.

Es wurden deshalb vegetative Pflanzen mit bereits induzierten verglichen, deren Inflorescenzen etwa 10 cm hoch waren. Es war anzunehmen, daß bei Pflanzen, deren Entwicklung schon so weit in verschiedenen Richtungen vorangeschritten war, am ehesten qualitative Unterschiede in der RNS-Zusammensetzung faßbar sein müßten. Dabei mußte allerdings darauf verzichtet werden, eine Aussage über den primären oder sekundären Charakter etwa vorhandener Unterschiede zu machen.

a) Die Zusammensetzung der Nucleinsäuren-Präparate. Über den RNS- und DNS-Gehalt der Präparate orientieren die Tabelle 2 und 3.

Tabelle 2. *Der DNS- und RNS-Gehalt der Präparate in Gewichtsprozenten*

	DNS	RNS
Induzierte Pflanzen	2,56	51,0
Vegetative Pflanzen	1,38	35,6

Tabelle 3. *Das Verhältnis RNS/DNS in den Präparaten*

	RNS/DNS
Induzierte Pflanzen	19,97
Vegetative Pflanzen	25,80

Das Präparat aus vegetativen Pflanzen enthält neben Eiweiß weniger Nucleinsäuren als das aus induzierten Pflanzen. In ihm ist auch das Verhältnis RNS/DNS etwas zugunsten der RNS verschoben.

Wie entsprechende Vergleiche zeigten, läßt sich mit der relativ milden Phenolmethode aus vegetativen Pflanzen nicht so viel DNS gewinnen wie mit der Perchlorsäuren-Methode nach HOLDEN. Dagegen lieferten beide Methoden für RNS gleiche Werte. Die mit der Phenolmethode gewonnenen Präparate können demnach als repräsentativ für die RNS-Zusammensetzung der betreffenden Pflanzen gelten.

b) Bestimmung der Basenverhältnisse nach salzsaurer Hydrolyse. Aufspaltungen mit Ribonuclease sowie hochspannungselektrophoretische Auftrennungen intakter Präparate und der Ribonuclease-Ansätze ließen noch keine Differenzen zwischen vegetativen und induzierten Pflanzen erkennen. Wenn man dagegen Nucleinsäuren-Präparate einer salzsauren Hydrolyse unterwirft und dann die Basenverhältnisse ermittelt, so zeigen

sich Unterschiede (Tabelle 4). Wie die Signifikanzprüfung der Mittelwerte ergab, ist die Differenz im Verhältnis G/A gesichert. Ungesichert sind dagegen die geringeren Schwankungen in den Paarungen G/C und A/T + U.

Es fragt sich nun, ob die Verschiebung des Quotienten G/A auf eine Veränderung der RNS oder der in den Präparaten ja zu etwa 2% enthaltenen DNS zurückzuführen ist. Wie die Analysendaten zeigen, kann die beobachtete Schwankung nicht auf den Fortfall einer DNS-Fraktion zurückgehen — ganz abgesehen von der geringen vorhandenen Menge an DNS. Denn in der DNS verhalten sich G/C und A/T wie rund 1/1 (CHARGAFF-DAVIDSON 1955). Nimmt infolge einer Veränderung des DNS-Gehaltes eines der beiden Purine zu oder ab, so muß auch eine Zu- oder Abnahme des jeweils korrespondierenden Pyrimidins in gleicher Stärke erfolgen. Im vorliegenden Fall läßt sich aber nichts dergleichen feststellen.

Tabelle 4. *Die Basenverhältnisse in den Präparaten*

(Mittelwerte aus jeweils 20 Analysendaten)

Basenverhältnis	Induzierte Pflanzen	Vegetative Pflanzen
G/A (*t*-Test; $P = 0{,}05$)	1,19	1,14
C/U + T	1,18	1,18
G/C	1,34	1,32
A/U + T	1,33	1,35
Purine/Pyrimidine	1,32	1,32

RNS-Präparate, die unter genau gleichen Bedingungen aus induzierten und aus vegetativen Pflanzen gewonnen worden waren, weisen demnach eine verschiedene Basenzusammensetzung auf. Das bedeutet aber: Bei *Str.* ist die reproduktive Phase durch eine andere RNS-Zusammensetzung charakterisiert als die vegetative. Nach diesem Befund erschien es nun durchaus möglich, daß auch die Einleitung dieser reproduktiven Phase, die Blühinduktion, unter der Mitwirkung spezifischer RNS ablaufen könnte.

III. Die selektive Hemmung der Blütenbildung durch 2-Thiouracil

Nach der Blühinduktion wächst *Str.* stark heran und bildet gleichzeitig Inflorescenzen aus. Es war nun möglich, diese beiden Prozesse voneinander zu entkoppeln: durch Behandlungen mit 2-Thiouracil während der Induktion konnte die Anlage von Inflorescenzen stark verzögert oder gänzlich unterbunden werden, während das RNS-abhängige Wachstum ungestört vonstatten ging. Die im einzelnen bereits mitgeteilten experimentellen Daten (HESS 1959) führten zu dem Schluß, das Thiouracil bei entsprechender Versuchsanordnung selektiv nur ein spezifisch an der Blütenbildung beteiligtes RNS-System, nicht aber die für das vegetative Wachstum notwendigen RNS-Systeme blockiert.

IV. Die selektive Hemmung der Blütenbildung durch Äthionin

Zahlreiche Untersuchungen belegen, daß der RNS bei der Synthese von Proteinen eine tragende Rolle zukommt (unter anderen GIERER

und SCHRAMM 1956, vgl. BRACHET 1957, SCHRAMM 1958). Dabei wirkt die RNS spezifisch, eine bestimmte RNS veranlaßt die Bildung eines dieser RNS entsprechenden Proteins.

Beteiligte sich eine spezifische RNS an der Blühinduktion, so wäre zu erwarten, daß sie über ein ebenso spezifisches Protein in die Morphogenese eingreift. Dann sollte es aber möglich sein, den morphogenetischen Prozeß nicht nur auf der Stufe der RNS, sondern auch auf der nachfolgenden des Proteins abzustoppen. Durch Ausschalten dieses Proteins sollte die Blütenbildung ebenso selektiv gehemmt werden wie durch Blockierung der ihm zugrunde liegenden RNS.

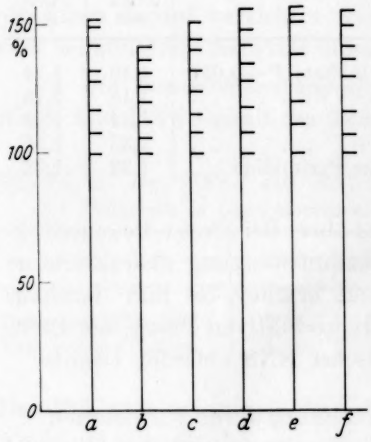


Abb. 2

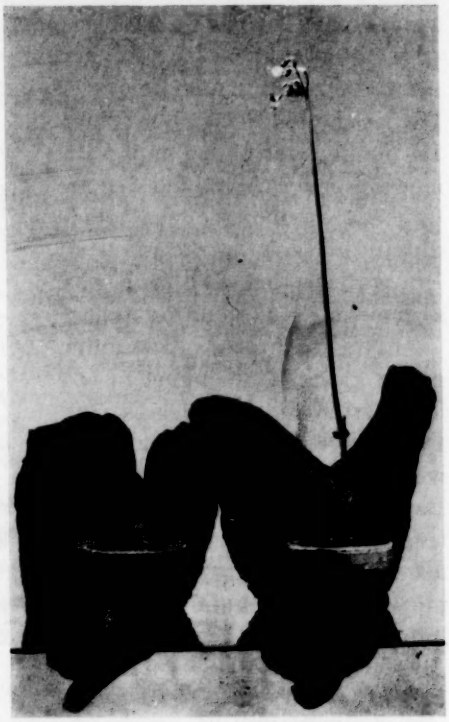


Abb. 3

Abb. 2. Wachstum der *Str.*-Blätter nach Induktionsende. Länge bei Induktionsende = 100 %. Querstriche = Zuwachs pro Woche nach Induktionsende; 1. Querstrich = Länge bei Induktionsende; 2. Querstrich = Länge zu Beginn der 8. Woche nach Induktionsende; *a* unbehandelte Kontrollen; *b* 2 mg; *c* 1 mg; *d* 0,5 mg; *e* 0,25 mg; *f* 0,125 mg Äthionin pro Pflanze und Induktionswoche

Abb. 3. Rechts Kontrolle, links eine Pflanze, die in jeder Induktionswoche 1 mg Äthionin erhalten hatte. Bei ungestörtem Wachstum ist die Blütenbildung der Äthionin-Pflanze blockiert. Die Längendifferenz im Achsenkörper unterhalb der Blattspreite stellt sich erst relativ spät beim Auswachsen der Inflorescenzen ein. Aufnahme 14 Wochen nach Induktionsende

a) Die Wirkung von Äthionin auf Wachstum und Blütenbildung. In Hemmversuchen wurden die Pflanzen während der Induktion mit Äthionin, einem Antagonisten des Methionins, behandelt. Zunächst mußte festgestellt werden, welche Wochendosen an Äthionin noch ein ungehindertes Wachstum im Anschluß an die Induktion gestatten.

Abb. 2 zeigt, daß eine Äthioninkonzentration von 2 mg pro Pflanze und Woche das Wachstum nach der Induktion herabsetzt, während bei Wochendosen von 1 mg und weniger kein Unterschied im Wachstum zwischen den Äthioninreihen und den unbehandelten Kontrollen zu bemerken ist.

Äthioninmengen, die das Wachstum nicht mehr beeinträchtigen, vermögen aber noch nachhaltig auf die Blütenbildung zu wirken (Abb. 3, 4). Äthionindosen von 1,0 mg und weniger pro Pflanze und Induktionswoche verzögern das Erscheinen der Inflorescenzen. Bei einer Applikation von 2,0 mg kann die Blütenbildung sogar ganz unterbleiben.

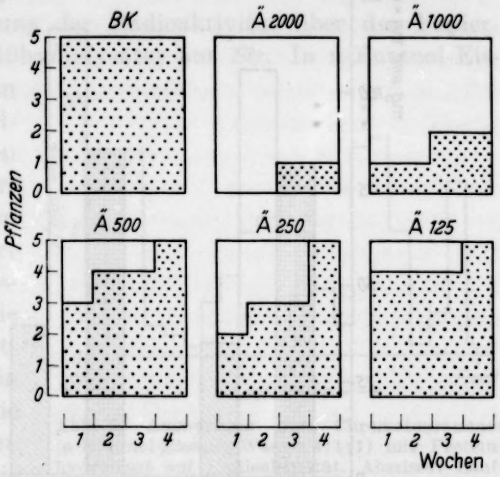


Abb. 4. Äthionin und die Anlage der Inflorescenzen. Abszisse = Wochen nach Abschluß der Induktion; Woche *1* = diejenige Woche, in der alle Kontrollen Inflorescenz-Anlagen zeigten. Ordinate = Zahl der Pflanzen. Getüpfelt die Pflanzen, die in der betreffenden Woche makroskopisch erkennbare Inflorescenz-Anlagen zeigten. Pflanzen, die in der Woche *4* noch keine Inflorescenz-Anlagen aufwiesen, kamen nicht mehr zur Blüte. *BK* Kontrolle; *Ä* 2000 usw. Äthionindosis in γ pro Pflanze und Induktionswoche

Folgendes sei noch ergänzend bemerkt: Die Zuwachsgrößen in Abb. 2 sind Mittelwerte. Die einzelnen Pflanzen weisen keine größeren Abweichungen vom Mittelwert auf. Eine Ausnahme bildet lediglich Ä 2000, denn hier wuchs die eine Pflanze, die nach Abb. 4 zur Blüte kam, wie die Kontrollen, alle anderen aber langsamer. In diesem Fall kann also von einer selektiven Blühhemmung nicht die Rede sein. Bei der hohen Äthioninkonzentration dürften vielmehr unspezifisch toxische Effekte eine wesentliche Rolle spielen. In den anderen Versuchsreihen der Abb. 4 aber findet sich eine Blockierung oder Verzögerung der Inflorescenz-Bildung bei ungestörtem Wachstum, d. h. eine selektive Beeinflussung.

Versuche, die Äthionin-Hemmung durch Methionin wieder aufzuheben, scheiterten daran, daß Methionin selbst zumindest unter Klimakammerbedingungen in den verwendeten Dosen von 10—100 mg pro Pflanze und Induktionswoche stark toxisch wirkt. Die Pflanzen gingen entweder zugrunde, oder sie überdauerten den Eingriff und kamen dann trotz deutlicher Schädigungen auch zur Blüte. Eine selektive Blühhemmung lag also nicht vor. Da die Wirkungsweise des Methionins von der des Äthionins gänzlich verschieden ist, steht der negative

Ausgang der Versuche mit diesem Agens nicht im Widerspruch zu den Ergebnissen der Äthioninbehandlungen.

b) Quantitative Analysen auf Nucleinsäuren und Proteine. Ein ungestörtes Streckungswachstum — und das unmittelbar meßbare Wachstum beruht überwiegend auf Zellstreckung — ist auch bei einer nur geringfügigen Eiweißsynthese noch möglich (POHL 1954). Es wäre also

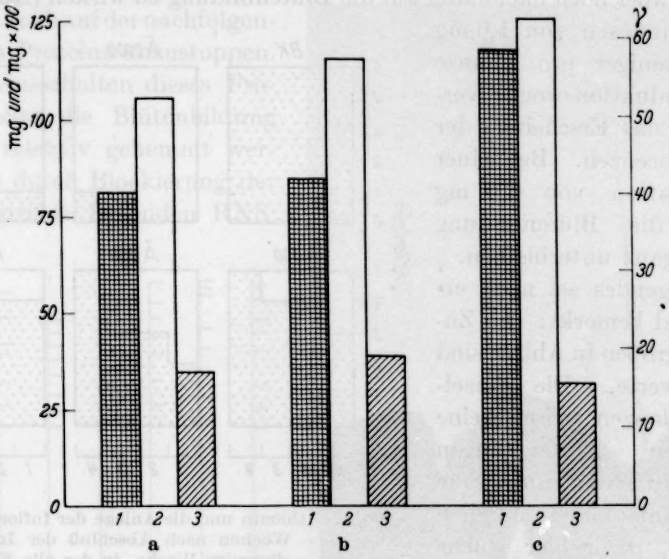


Abb. 5. Analysen 9 Wochen nach Induktionsende. a Unbehandelte, normal induzierte Pflanzen; b Äthionin-Pflanzen (1,0 mg pro Pflanze und Induktionswoche) mit verzögerter Inflorescenzbildung bei ungestörtem Wachstum; c unbehandelte vegetative Pflanzen. Bei a waren die Inflorescenzen zum Zeitpunkt der Analyse 10 cm, bei b dagegen nur 10 mm hoch. *1* Trockengewicht, *2* Protein-N in Milligramm × 100; *3* Nucleinsäuren-P (DNS + RNS) in γ pro Gramm Frischgewicht

denkbar, daß ein nach außen hin normales Wachstum trotz eines durch die Äthioninbehandlungen herbeigeführten tiefgreifenden Defektes in den Proteinsystemen der Zellen stattfindet. In diesem Fall ließe sich aber nicht entscheiden, ob die Blühhemmung als Folge einer allgemeinen Schädigung des Proteinstoffwechsels oder als Folge eines Fortfalls spezifischer Proteine aufzufassen wäre.

Zur Klärung dieser Frage wurden quantitative Analysen durchgeführt. Nach Abb. 5 unterscheiden sich Pflanzen, die ihre Inflorescenzen nach Äthioninbehandlung bei ungestörtem Wachstum verzögert anlegten, chemisch kaum von normal induzierten und blühenden Pflanzen. Beide Gruppen weisen aber gleichartige Unterschiede gegenüber vegetativen Kontrollen auf. Durch die Behandlungen mit Äthionin jedenfalls kann nur ein System betroffen worden sein, das in den Zellen nur in geringer Menge vorhanden ist und deshalb bei den Analysen

nicht faßbar ist. Eine tiefgreifende Schädigung der RNS-Eiweiß-Systeme liegt nicht vor.

c) Der Einbau von Äthionin-C^{14} in die Proteine von Streptocarpus. Hätte sich Methionin zur Aufhebung der Äthioninwirkungen verwenden lassen, so wäre damit bereits ein erster Hinweis darauf gewonnen worden, daß Äthionin über seinen Einbau in methioninhaltige Strukturen wirksam wird. Da dies nicht möglich war, waren Versuche mit radioaktiver Substanz doppelt notwendig.

Abb. 6 zeigt die Verteilung der Radioaktivität über das Papierchromatogramm eines Eiweißhydrolysates aus *Str.* In n-Butanol-Eisessig-Wasser ließ sich Äthionin nicht eindeutig von Phenylalanin und auch den Leucinen trennen. Infolgedessen wurden die erwähnten Substanzen vom Chromatogramm eluiert und mittels Hochspannungselektrophorese getrennt. Die Leucine wandern dabei deutlich schneller als Äthionin und Phenylalanin, die die gleiche Mobilität besaßen. Bei Papierchromatographie mit n-Butanol-Ameisensäure-Wasser liegt Äthionin etwas oberhalb von Phenylalanin und etwas unterhalb der Leucine. Bei allen diesen Auftrennungen war der Ort des Äthionins radioaktiv.

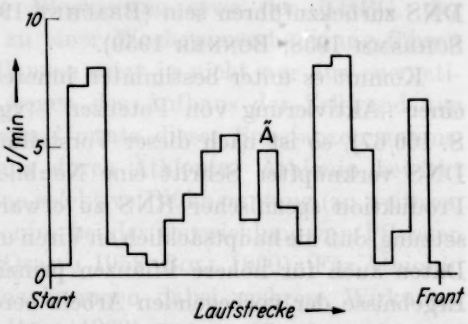


Abb. 6. Auswertung eines Chromatogrammes (n-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:1) mit Proteinhydrolysat auf Radioaktivität. Abszisse: Laufstrecke in Zentimeter, Ordinate: Impulse/min. *Ã* = Lage des Äthionins

Die jeweils gemessenen Impulszahlen sind gering. Verschiedene Ursachen hierfür sind denkbar:

1. Es konnte nur eine begrenzte Menge Hydrolysat chromatographiert werden, sollte eine einigermaßen scharfe Trennung gewährleistet bleiben.

2. Hydrolysenverluste lassen sich nicht ausschließen.

3. Ein Einbau von Äthionin in andere Substanzen als Protein ist zwar noch nicht nachgewiesen, aber möglich.

4. Die radioaktive Äthylgruppe des Äthionins kann abgespalten und bei der Synthese anderer C-Gerüste verwendet werden. Mit Sicherheit wurde das C^{14} der Äthylgruppe in zwei Transleucinen, in Leucin/Isoleucin, Valin und Methionin festgestellt. Auch in den langsamer laufenden Aminosäuren der Chromatogramme findet sich Radioaktivität, doch war hier mit der eindimensionalen Chromatographie eine genaue Bestimmung nicht möglich. Die Radioaktivität des Äthionins ist in Abb. 6 niedriger als in den umliegenden Aminosäuren, was sich durch

die eben erwähnten Daten erklären läßt. Da während der Blühinduktion fortlaufend neues Äthionin zugeführt wurde, vermag es trotz des beobachteten Abbaus wirksam zu werden.

Diskussion

Gene wirken über Fermente (unter anderen BUTENANDT 1953, Mosbacher Kolloquium 1959). Einer der möglichen Träger genetischer „Informationen" ist auch bei den höheren Pflanzen die DNS. Zumindest ein beträchtlicher Teil der als Genprodukte zu bezeichnenden spezifischen Eiweißkörper dürfte unter Vermittlung von RNS auf die DNS zurückzuführen sein (BRACHET 1957, MCELROY und GLASS 1957, SCHRAMM 1958, BONNER 1959).

Kommt es unter bestimmten inneren und äußeren Bedingungen zu einer „Aktivierung von Potenzen" (vgl. hierzu auch BÜNNING 1953, S. 166/67), so ist nach dieser Vorstellung als erster, noch eng mit der DNS verknüpfter Schritt eine Neubildung oder quantitativ stärkere Produktion spezifischer RNS zu erwarten; immer unter der Voraussetzung, daß die hauptsächlich an Viren und Mikroorganismen ermittelten Daten auch für höhere Pflanzen prinzipielle Gültigkeit besitzen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit berechtigen nun zu der Annahme, daß sich an der Blütenbildung von *Str.*, einem genetisch kontrollierten Entwicklungsschritt, in der Tat ein spezifisch wirkendes RNS-System beteiligt.

1. Die Verzögerung der Regeneratbildung von Stecklingen durch Ribonuclease. Nach der Blühinduktion liegt ein etwa neugebildetes, spezifisch blühförderndes RNS-System ebenso in den Zellen vor wie die Masse der sonstigen RNS. Das besonders labile Stadium seiner erstmaligen Synthese ist abgeschlossen (vgl. hierzu JEENER 1958). Unter diesen Umständen ist eine selektive Wirkung der Ribonuclease nicht mehr zu erwarten. In der Tat wird die Bildung von Inflorescenz- und von Blattregeneraten durch Ribonuclease beeinträchtigt. Die Ribonuclease-Versuche lassen demnach keine Rückschlüsse auf eine eventuelle Spezifität der an der Inflorescenzbildung beteiligten RNS zu, aber sie zeigen, daß sich RNS generell an morphogenetischen Prozessen bei *Str.* zu beteiligen vermag.

2. Die verschiedene Zusammensetzung der RNS in induzierten und vegetativen Pflanzen. Ebenso wie bei dem Farn *Dryopteris erythrorsa* (HOTTA et al. 1959) sind auch bei *Str.* verschiedene Entwicklungsstadien durch eine ganz bestimmte RNS-Zusammensetzung charakterisiert[1]. Die reproduktive Phase weist eine andere RNS-Zusammensetzung auf als

[1] GULICH (1960) zufolge wird auch bei SISSAKIAN (Biochemie der Plastiden, russ., Acad. Sci. USSR., Soc. Bot. USSR., 1954) über Verschiebungen des Purin/Pyrimidin-Verhältnisses berichtet. Die Originalliteratur stand nicht zur Verfügung.

die vegetative, ein Unterschied, der in bezug auf die Vorgänge bei der Blühinduktion allerdings sekundärer Natur sein dürfte.

3. Die selektive Blühhemmung durch Thiouracil. Daß sich nun aber auch an der Blühinduktion selbst RNS spezifischer Art beteiligen könnte, ging aus Hemmversuchen mit Thiouracil hervor, dessen Wirkungsmechanismus in der selektiven Blockierung eines spezifisch blühfördernden RNS-Systems gesehen werden kann (Hess 1959). Für eine Hemmung anderer uracilhaltiger Zellstrukturen durch Thiouracil gibt es im vorliegenden Fall nicht nur keine Anhaltspunkte, sondern sie läßt sich, soweit es sich dabei um Substanzen von genereller Bedeutung handelt, sogar ausschließen. Denn eine Blockierung etwa der UDPG, der „aktiven Glucose", hätte auch zu einer Wachstumsschädigung führen müssen. Das Wachstum der Pflanzen setzt ja nicht nur aus energetischen Gründen, sondern auch wegen des Aufbaus der Zellwand aus Kohlenhydraten einen ungestörten Umsatz dieser Substanzen voraus.

4. Die selektive Blühhemmung durch Äthionin. Äthionin bewirkt bei *Str.* ebenso wie Thiouracil eine selektive Blühhemmung (zu weiteren hemmenden Einflüssen des Äthionins bei der Entwicklung von Pflanzen vgl. Schrank 1956, Hotta und Osawa 1958, Boll 1960). Für Äthionin als Antagonisten des Methionins kommen dabei mehrere Wirkungsmechanismen in Betracht (vgl. Boll 1960).

Daß nun aber eine Blockierung generell wichtiger Stoffwechselvorgänge wie etwa der Transmethylierungen Ursache der selektiven Blühhemmung sein könnte, ist wenig wahrscheinlich. Bei einem solchen zentralen Eingriff hätte wiederum auch das vegetative Wachstum Störungen aufweisen müssen. Gerade beim Wandwachstum der Pflanzenzelle sind Methylierungen notwendig, so bei der Bildung von Pektinen aus den entsprechenden Vorstufen, die Äthionin zu stören vermag (unter anderen Jansen et al. 1960). Bei *Str.* laufen diese Methylierungen trotz der Äthioninbehandlungen ab, denn eine Beeinflussung des Wachstums ist bei der selektiven Blühhemmung nicht feststellbar.

Äthionin kann nun wie z. B. bei der Rattenleber (Miller und Miller 1959) auch bei *Str.* in Proteine eingebaut werden. Die plausibelste Erklärung für die selektive Blühhemmung durch Äthionin wäre demnach die Blockierung von Eiweißkörpern, die nur für die Blütenbildung notwendig sind.

Bei *Str.* bestehen nun Beziehungen zwischen RNS und Proteinsynthese, wie sie für einige höhere Pflanzen bereits nachgewiesen wurden (Kessler 1958, Brachet 1957, Schramm 1958, Webster 1958). Denn erstens schädigt Thiouracil, das bei *Str.* in die RNS eingebaut wird, unter Umständen die Proteinsynthese (Hess 1959), und zweitens verzögert Ribonuclease bei *Str.* die Regeneratbildung, d. h. Prozesse, die ohne Proteinsynthese nicht denkbar sind.

Einerseits ist der Wirkungsmechanismus des Äthionins bei der selektiven Blühhemmung in der Blockierung eines spezifischen Proteins zu suchen, andererseits stehen RNS und Proteinsynthese auch bei *Str.* im Zusammenhang. Somit erscheint es berechtigt, von der Existenz eines spezifisch blühfördernden Proteins Rückschlüsse auf das Vorhandensein einer im gleichen Sinne spezifischen RNS zu ziehen.

Ob ein Zusammenhang zwischen diesem spezifischen RNS-System und dem postulierten Blühhormon besteht und welcher Art dieser Zusammenhang sein könnte, muß offenbleiben. Die bisher vorliegenden Ergebnisse berechtigen lediglich zu der Annahme, daß sich neben anderen Faktoren auch RNS von spezifisch blühförderndem Charakter an den Vorgängen der Blühinduktion beteiligt.

Zusammenfassung

1. Ribonuclease verzögert auf Grund ihrer fermentativen Eigenschaften das Auftreten von Blatt- und Inflorescenzregeneraten an Stecklingen induzierter *Str.*-Pflanzen. RNS vermag sich demnach an morphogenetischen Prozessen bei *Str.* zu beteiligen.

2. In der RNS induzierter Pflanzen ist das Verhältnis G/A gegenüber der RNS vegetativer Pflanzen verändert. Bei *Str.* ist also die reproduktive Phase durch eine andere RNS-Zusammensetzung charakterisiert als die vegetative.

3. Auch die Einleitung der reproduktiven Phase, die Blühinduktion, verläuft unter der Mitwirkung spezifischer RNS. Hinweise hierauf konnten gewonnen werden a) aus der selektiven Blühhemmung durch Thiouracil (HESS 1959), b) aus der selektiven Blühhemmung durch Äthionin. Mit Äthionin läßt sich ebenso wie mit Thiouracil die Blütenbildung ohne Beeinflussung des Wachstums blockieren. Unspezifisch toxische Einflüsse auf die RNS-, DNS- und Proteinsynthese liegen dabei nicht vor. Da Äthionin in die Eiweiße von *Str.* eingebaut wird, kann sein Wirkungsmechanismus in dem Ausfall eines spezifisch an der Blühinduktion beteiligten Proteins gesehen werden. Die Existenz eines solchen spezifischen Proteins läßt aber auch bei *Str.* Rückschlüsse auf das Vorhandensein eines entsprechenden RNS-Systems zu.

Literatur

AACH, H. G., u. G. MELCHERS: Serologische Untersuchungen an kältebedürftigen Pflanzen. Biol. Zbl. **76**, 466—475 (1957).

BER, A.: Auxine und Nucleinsäuren. Experientia (Basel) **5**, 455—460 (1949).

BEUTTEL, E.: Bastardierungversuche in der Gattung *Streptocarpus* LINDL. II. Die Heterosis bei *Streptocarpus*hybriden. Z. Bot. **35**, 49—91 (1940).

BOLL, W. G.: Ethionine inhibition and morphogenesis of excised tomato roots. Plant Physiol. **35**, 115—122 (1960).

Bonner, J.: Protein synthesis and the control of plant processes. Amer. J. Bot. **46**, 58—62 (1959).

Brachet, J.: Biochemical cytology. New York: Academic Press 1957.

Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953.

Butenandt, A.: Biochemie der Gene und Genwirkungen. Naturwissenschaften **40**, 91—100 (1953).

Chargaff, E., and J. N. Davidson: The nucleic acids, vol. I and II. New York: Academic Press 1955.

Cohen, S. S., J. G. Flaks, H. D. Barner, M. R. Loeb and J. Lichtenstein: The mode of action of 5-fluorouracil and its derivatives. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **44**, 1004—1012 (1958).

Engler, R., u. G. Schramm: Die Bildung der infektiösen Ribonucleinsäure während der Vermehrung des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **15b**, 38—45 (1960).

Finch, L. R., and D. J. Carr: Nucleic acid content of Petkus rye embryos in relation to vernalization and devernalization. Aust. J. biol. Sci. **9**, 355—363 (1956).

Gierer, A., u. G. Schramm: Die Infektiosität der Nucleinsäure aus Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **11b**, 138—142 (1956).

Gulich, L.: Veränderungen in der Nucleinsäure-Fraktion grüner Blätter im Zusammenhang mit photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **54**, 374—393 (1960).

Hais, I. M., u. K. Macek: Handbuch der Papierchromatographie, Bd. I. Jena: Gustav Fischer 1958.

Hengst, K. H.: Untersuchungen zur Physiologie der Regeneration in der Gattung *Streptocarpus* Lindl. 1. Wirkungsweise einiger Substanzen auf die Regenerationsprozesse. Z. Bot. **47**, 306—335 (1959).

Hess, D.: Die selektive Blockierung eines an der Blühinduktion beteiligten Ribosenucleinsäure-Eiweißsystems durch 2-Thiouracil. Planta (Berl.) **54**, 74—94 (1959).

Höhn, K.: Zur Frage der Bedeutung der Nucleinsäuren für die Wachstumsvorgänge der Pflanzen. Beitr. Biol. Pflanz. **31**, 261—292 (1955).

Holden, M.: The fractionation and enzymic breakdown of some phosphorus components in leaf tissue. Biochem. J. **51**, 433—442 (1952).

Hotta, Y., and S. Osawa: Control of differentiation in the fern gametophyte by amino acid analogues and 8-azaguanin. Exp. Cell Res. **15**, 85—94 (1957).

Hotta, Y., S. Osawa and T. Sakaki: Ribonucleic acid and differentiation of a polypodiaceous fern. Develop. Biol. **1**, 65—78 (1959).

Jansen, E. F., R. Jang, P. Albersheim and J. Bonner: Pectic metabolism of growing cell wall. Plant Physiol. **35**, 87—97 (1960).

Jeener, R.: The action of ribonuclease, thiouracil and azaguanine on the synthesis of phage proteins by an induced lysogenic bacterium. Biochim. biophys. Acta **27**, 665 (1958).

Kern, H.: Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Nukleinsäuren in grünen Blättern. Planta (Berl.) **53**, 595—601 (1959).

Kessler, B.: Effect of transmitted ribonucleic acid from healthy pear trees upon the synthesis and composition of protein. Nature (Lond.) **181**, 201—202 (1958).

Lang, A.: The physiology of flowering. Ann. Rev. Plant Physiol. **3**, 265—306 (1952).

Linskens, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

Lorenzen, H., u. H.-G. Ruppel: Versuche zur Gliederung des Entwicklungsverlaufes der *Chlorella*-Zelle. Planta (Berl.) **54**, 394—403 (1960).

Markham, R.: Nucleic acids, their components and related compounds. In K. Paech u. M. V. Tracey, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 4. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

McElroy, W. D., and B. Glass: A symposium on the chemical basis of heredity. Baltimore: John Hopkins Press 1957.

Metzner, H.: Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **45**, 493—534 (1955).

Miller, E. C., and J. A. Miller: Biochemistry of carcinogenesis. Ann. Rev. Biochem. **28**, 291—320 (1959).

Mosbacher Kolloquium 1959: Chemie der Genetik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Oehlkers, F.: Bastardierungsversuche in der Gattung *Streptocarpus* Lindl. I. Plasmatische Vererbung und die Geschlechtsbestimmung von Zwitterpflanzen. Z. Bot. **32**, 305—393 (1938).

— Veränderungen in der Blühbereitschaft vernalisierter Cotyledonen von *Streptocarpus*, kenntlich gemacht durch Blattstecklinge. Z. Naturforsch. **11 b**, 471—480 (1956).

— Bastardierungsversuche in der Gattung *Streptocarpus* Lindl. VI. Die genischen und plasmonischen Grundlagen der Blütenschlitzung verschiedener *Streptocarpus*-Bastarde, sowie über die Konstitution des Plasmons. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **88**, 1—20 (1957).

Sarkar, S.: Versuche zur Physiologie der Vernalisation. Biol. Zbl. **77**, 1—49 (1958).

Schramm, G.: Die identische Reproduktion der Proteine. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 8. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Schrank, A. R.: Ethionine inhibition of elongation and geotropic curvature of *Avena* coleoptiles. Arch. Biochim. **61**, 348—355 (1956).

Schuster, H. G., G. Schramm u. W. Zillig: Die Struktur der Ribonucleinsäure aus Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **11 b**, 339—345 (1956).

Tashima, Y., and S. Imamura: Substitutive effect of ribonucleic acid in the vernalization of *Raphanus sativus* in darkness culture. Bot. Mag. (Tokyo) **67**, 281—282 (1954).

Webster, G. C.: Nitrogen metabolism in plants. New York: Row, Peterson & Co. 1958.

Zeevart, I. A. D.: Flower formation as studied by grafting. Meded. Landbouwhoogeschool Wageningen **58**, 1—88 (1958).

Priv.-Doz. Dr. Dieter Hess,
(13 b) München, Max Planck-Institut für Zellchemie, Karlstr. 23

Planta 57, 29—43 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DER STATUS DER VEGETATIV TÄTIGEN RIBONUCLEINSÄURE WÄHREND DER BLÜHINDUKTION * **

Von

DIETER HESS

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. März 1961)

Untersuchungen von SALISBURY und BONNER (1960) ließen auf eine Mitwirkung von Nucleinsäuren an der Blühinduktion schließen, wenn auch nicht entschieden werden konnte, ob es sich dabei um DNS oder um RNS und ob es sich um Nucleinsäuren spezifischer Funktion handelte oder nicht. In Ergänzung hierzu lieferten Hemmversuche mit Thiouracil und mit Äthionin an dem Objekt *Streptocarpus wendlandii* erste Hinweise darauf, daß sich RNS von spezifisch blühförderndem Charakter an der Blühinduktion beteiligt (HESS 1959, 1961). Auch bei *Cannabis sativa* ist es in ähnlicher Weise gelungen, den Effekt der photoperiodischen Induktion durch Thiouracil-Behandlungen zu beseitigen (HESLOP-HARRISON, briefliche Mitteilung 1960). Wenn nun während der Blühinduktion ein solches blühförderndes RNS-System ausgebildet wird, so muß von besonderem Interesse sein, wie sich die RNS-Systeme in dieser Zeit verhalten, die schon im vegetativen Entwicklungszustand tätig waren. Sie seien hier der Kürze wegen als „vegetative" RNS im Gegensatz zu der neugebildeten „reproduktiven" RNS bezeichnet. Mit dem Status dieser „vegetativen" RNS und den möglichen Wechselbeziehungen zwischen den „vegetativen" und den „reproduktiven" RNS-Systemen während der Blühinduktion befaßt sich die vorliegende Arbeit.

Material und Methoden

Versuchsobjekt war wiederum *Streptocarpus wendlandii*.

Versuche mit P^{32}. Jede Pflanze erhielt 0,2 mc P^{32} (als Orthophosphat in salzsaurer Lösung geliefert) in 5 ml 0,015 m Phosphatpuffer p_H 7,0, die mit einer Pipette gleichmäßig über die Blattbasis verteilt wurden. 5 Tage nach der Applikation wurde die RNS nach HOLDEN (1952) extrahiert und die Radioaktivität der Extrakte bestimmt. Für jeden Einzelversuch wurden zwei Pflanzen verwendet.

Virusversuche. Von den überprüften TMV-Stämmen *flavum*, *dahlemense* und *vulgare*[1] zeigte nur *flavum* sichtbare Symptome auf *Str. wendlandii* und wurde

* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. F. OEHLKERS, möchte ich herzlich für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit danken.

** Gekürzte Teilfassung einer Habilitationsschrift der Naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

[1] Herrn Prof. Dr. G. MELCHERS, Tübingen, möchte ich auch an dieser Stelle für die Überlassung des Virusmaterials danken.

deshalb zu allen hier erwähnten Versuchen verwendet. Um wenigstens in einer Versuchsreihe annähernd gleiche Mengen an Virus zu applizieren, wurden jeweils 25 mg virushaltiges Blattmaterial (TMV *flavum* in *Nicotiana tabacum* „Java") in 10 ml 0,15 m Phosphatpuffer p_H 7,0 zerrieben und mit einem Wattebausch gleichmäßig auf die gesamte Blattoberfläche von *Str.* übertragen.

Abkürzungen. GS = Gibberellinsäure, IES = Indol-3-essigsäure, DNS = Desoxyribonucleinsäure, RNS = Ribonucleinsäure, N = Stickstoff, P = Phosphor, TMV = Tabakmosaikvirus, *Str.* = *Streptocarpus.*

Zu allen weiteren methodischen Einzelheiten vgl. HESS (1959, 1961).

Ergebnisse

I. Quantitative Analysen auf DNS, RNS und Protein während der Blühinduktion

Abb. 1 orientiert über das Ergebnis quantitativer Analysen während der Blühinduktion:

Das Trockengewicht nimmt unter induktiven Bedingungen zu und fällt nach der Induktion bei der im Zuge des nun einsetzenden Wachstums erfolgenden Wasseraufnahme wieder ab. Der Gehalt an Gesamt-N steigt während der Induktion leicht an, bei DNS, RNS und Protein wird die ursprüngliche Menge unverändert beibehalten.

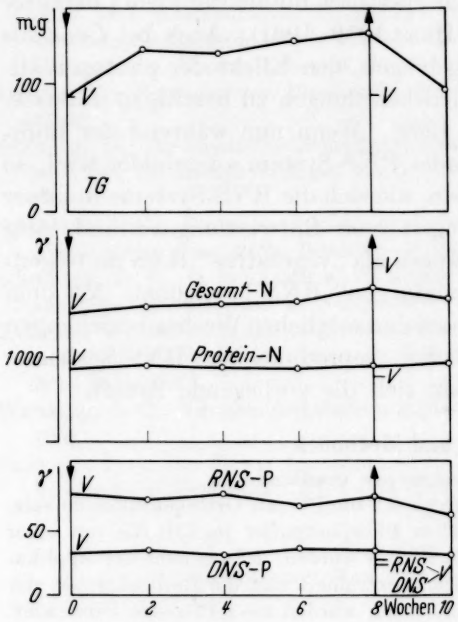


Abb. 1. Quantitative Analysen während der Blühinduktion. Abszisse: Wochen nach Beginn der Induktion. Ordinate: Substanzmengen pro Gramm Frischgewicht. Die Analysenwerte, die an Pflanzen während der Induktion oder nach der Induktion (letzter Wert rechts) gewonnen wurden, sind miteinander verbunden. Die Kontrollen unter nichtinduktiven Bedingungen wurden zu Beginn (Pfeil abwärts) und Ende der Induktion (Pfeil aufwärts) untersucht und sind durch *V* charakterisiert. Auch bei Bezugnahme auf das Trockengewicht enthalten Pflanzen unter induktiven Bedingungen am Ende der Induktion mehr RNS als solche unter nichtinduktiven Bedingungen

Diese Analysendaten stehen mit der Auffassung, daß während der Induktion ein spezifisches RNS-System gebildet wird, nicht in Widerspruch. Denn erstens sagen die quantitativen Analysen nichts über die qualitative Zusammensetzung der Fraktionen aus, und zweitens dürfte ein in nur geringen Mengen neugebildetes System mit den gegebenen Methoden kaum faßbar sein.

Die unter nichtinduktiven Bedingungen gehaltenen vegetativen Kontrollen zeigen in der gleichen Zeitspanne ein deutliches Ansteigen des Gesamt-N, während der Protein- und DNS-Gehalt leicht, der RNS-Gehalt stark absinken.

Alle Untersuchungen fanden im Winterhalbjahr statt. Im Gewächshaus unter nichtinduktiven Bedingungen wächst *Str.* auch im Winter, wenngleich nicht stark. Unter induktiven Bedingungen ist dagegen keinerlei Zuwachs festzustellen. Berücksichtigt man nun die eben erwähnten Analysendaten, dann ergibt sich ein auffälliger Widerspruch: RNS spielt eine wichtige Rolle bei der Proteinsynthese auch von *Str.* (Hess 1961). Ganz ohne Proteinsynthese ist ein länger anhaltendes Wachstum nicht denkbar, auch wenn beim Streckungswachstum die Eiweißbildung unter Umständen gering sein kann (Pohl 1954). Pflanzen unter nichtinduktiven Bedingungen besitzen nun relativ wenig RNS und vermögen doch zu wachsen, Pflanzen unter induktiven Bedingungen dagegen können mehr RNS enthalten und wachsen dennoch nicht. Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür wäre, daß die „vegetative" RNS unter induktiven Bedingungen zwar nach wie vor vorhanden ist, aber eine herabgesetzte Aktivität aufweist.

II. Die Wirkung von IES und GS auf das Wachstum während der Induktion und auf die Blütenbildung

Es wäre nun durchaus möglich, daß nicht die RNS, sondern eine andere Substanz das Wachstum während der Induktion begrenzt. Insbesondere ist dabei an Wuchsstoffe zu denken, denn der Gehalt an IES und einem weiteren Wuchsstoff sinkt im *Str.*-Blatt während der Induktion zeitweise stark ab (Hess 1958). Es wurde deshalb versucht, durch Wuchsstoffzufuhr ein Wachstum während der Induktion auszulösen.

a) Die Wirkung von Wuchsstoffen auf das Wachstum während der Induktion. Weder IES (Milligramm pro Pflanze und Induktionswoche: 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,1) noch GS (Milligramm pro Pflanze und Induktionswoche: 0,1) vermögen ein Wachstum der Blattspreite (unter Wachstum ist hier stets Wachstum der Blattspreite verstanden) unter induktiven Bedingungen anzuregen. Lediglich das Achsenstück unterhalb der Spreite war am Ende der Induktion bei IES-Einwirkung geringfügig verlängert, bei GS-Pflanzen mehr als doppelt so lang wie bei unbehandelten Kontrollen. Mit GS behandelte Pflanzen richteten sich überdies stark auf. Wie diese Effekte zeigen, werden IES und GS von Pflanzen unter induktiven Bedingungen durchaus aufgenommen und vermögen anderweitig wirksam zu werden. Nur eben ein Spreitenwachstum ließ sich nicht auslösen.

Im Gegensatz zu diesen negativen Befunden während der Induktion fördern sowohl IES als auch GS das Wachstum unter nichtinduktiven Bedingungen (s. unten).

b) Die Wirkung von Wuchsstoffen auf das Erscheinen und die weitere Entwicklung der Inflorescenzen. Nach RESENDE und VIANA (1952) kann die heranwachsende Inflorescenz von *Str.* durch hohe Wuchsstoffgaben in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Unsere IES-Behandlungen während der Induktion, d. h. vor Ausbildung der Inflorescenzen, hatten bei den angegebenen Konzentrationen nur einen schwachen Einfluß auf das Erscheinen der Inflorescenzen. Der Zeitpunkt, zu dem die Blütenstände auftraten, war etwas hinausgezögert, aber es kamen schließlich doch alle Pflanzen zur Blüte (Tabelle 1). Die weitere Entwicklung der Blütenstände verlief normal.

Tabelle 1. *Die Wirkung von IES und GS auf das Erscheinen der Inflorescenzen*

Je fünf Pflanzen, die Zahl der am Ende der betreffenden Wochen makroskopisch sichtbaren Inflorescenzanlagen wird angegeben; Wuchsstoffe in Milligramm pro Pflanze und Induktionswoche.

Wuchsstoffbehandlung	Wochen nach Induktionsende			
	1	2	3	4
GS 0,1 . . .	0	0	1	5
Kontrolle . .	0	0	5	5
IES 1,0 . . .	0	2	2	5
IES 0,1 . . .	0	3	4	5
Kontrolle . .	0	5	5	5

Bei den mit GS behandelten Pflanzen erschienen die Blütenstände ebenfalls etwas verspätet (Tabelle 1), wuchsen aber schneller heran und blühten eher auf als bei den Kontrollen. Dabei übt die während der Induktion gegebene GS einen nachhaltigen Einfluß auf die Gestaltung der Blüten aus. 14 Wochen nach Induktionsende und damit auch nach der letzten GS-Behandlung waren an der ersten Inflorescenz über 50% aller geöffneten Blüten partiell schlitzblätterig. Die mittleren unteren Petalen waren von den sonst noch verwachsenen Blütenkronen abgetrennt (Abb. 2a, b). Im Verlauf der weiteren Entwicklung klingt der GS-Einfluß ab. So waren an der zweiten serialen Inflorescenz zum gleichen Zeitpunkt nur 30% der Blüten geschlitzt, die Blüten der dritten serialen Inflorescenz schließlich waren wieder normal.

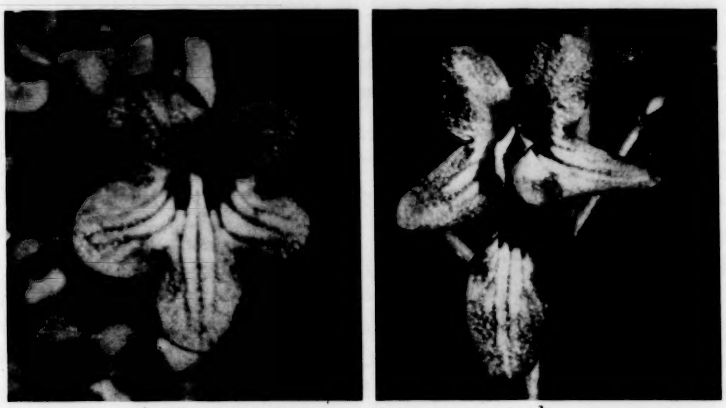
Der Ausfall der Wuchsstoffversuche zeigt, daß die Blockierung des Blattwachstums unter induktiven Bedingungen nicht auf ein Fehlen von Auxinen oder Gibberellinen zurückgeführt werden kann.

III. Inoculationsversuche mit TMV unter induktiven und nichtinduktiven Bedingungen

Während der Blühinduktion bildet sich bei *Str.* offensichtlich ein blühförderndes RNS-System. Es fragte sich, ob ein zu gleicher Zeit in die Zellen gebrachtes konkurrierendes RNS-System wie das TMV diesen Prozeß stört. Des weiteren ergab sich die Möglichkeit, am Modell

des TMV die Aktivität eines RNS-Systems in den Zellen von *Str.* während der Induktion zu testen.

1. Die Wirkung induktiver Bedingungen auf die TMV-Vermehrung. *a) Inoculationen mit TMV unter nichtinduktiven Bedingungen.* Bei einer Temperatur von 22—25° traten 8—14 Tage nach der Inoculation von TMV *flavum* die ersten Symptome auf: runde gelbe Flecke von 2—3 mm Durchmesser erschienen auf der mit TMV eingeriebenen Blattoberfläche mit Ausnahme der jüngsten basalen Blattregion. Bei hohen Lichtintensitäten traten die Läsionen früher, bei niederen etwas später



a b

Abb. 2. Normale *Streptocarpus*-Blüte (a) und Blüte nach GS-Behandlung (b 0,1 mg pro Pflanze und Induktionswoche). Aufnahme 14 Wochen nach Induktionsende

auf (Lichtintensitäten von 800—6000 Lux wurden überprüft). Ihre Zahl betrug bei der gegebenen Menge an Virusmaterial 150—200 pro Pflanze. Die einzelnen Flecke weiteten sich in den folgenden Monaten zu einem System von konzentrischen gelben Ringen aus, die schließlich ineinander übergingen.

An der Basis wachsen die Blätter unter nichtinduktiven Bedingungen langsam nach. Da die Virussymptome nicht auf den Neuzuwachs an der Blattbasis übergreifen, weist nach einigen Monaten nur noch die vordere Hälfte des Blattes Läsionen auf (Abb. 4a).

b) Inoculationen mit TMV unter induktiven Bedingungen. Infiziert man 14 Tage vor der Blühinduktion, so haben die Läsionen zu Induktionsbeginn einen Durchmesser von 3 mm. In den ersten 4 Wochen der nun anschließenden Induktion erweitert er sich noch auf 4 mm. In den folgenden 4 Induktionswochen bleibt er konstant 4 mm und nimmt erst nach Induktionsende wieder zu. Während der Induktion wird also auch eine schon eingeleitete Virusvermehrung unterbrochen.

Bei einer Inoculation erst während der Induktion treten zunächst keinerlei Symptome auf. Wenn aber die Pflanzen anschließend wieder

in nichtinduktive Bedingungen kommen, erscheinen die Läsionen — und zwar der Zeit ihres Auftretens, ihrer Zahl und Größe nach — genau so, als wären die Pflanzen erst am Ende der Induktion und nicht schon Wochen vorher infiziert worden. Lediglich die Serie, die gleich in der ersten Woche der Induktion infiziert worden war, macht in mancher Hinsicht eine Ausnahme. Im Zeitpunkt des Auftretens und im Durchmesser der Läsionen finden sich keine Unterschiede, aber ihre Zahl ist weit geringer (weniger als 30 pro Blatt gegenüber sonst 150—200), und an Stelle der runden Flecke erscheinen gelbe Ringe (Abb. 3a).

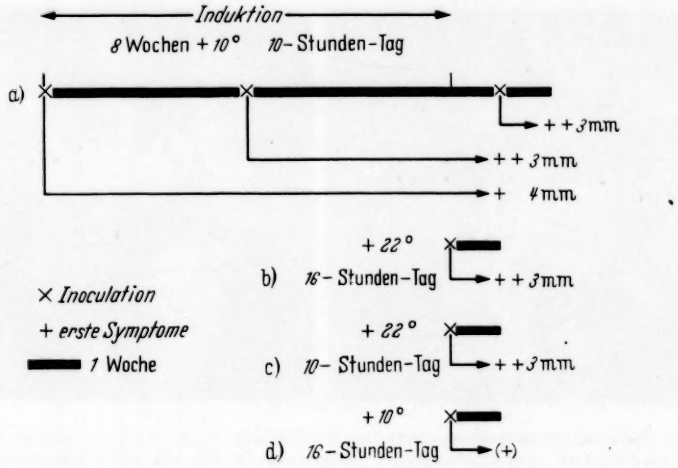


Abb. 3. Die Vermehrung des TMV-Stammes *flavum* im Blatt von *Str.* unter verschiedenen Außenbedingungen. Zeitpunkt des Auftretens und relative Häufigkeit der ersten Symptome sind durch Kreuze symbolisiert, hinter denen ihr jeweiliger Durchmesser in Millimetern angegeben wird. Die dünnen Pfeile verbinden den Zeitpunkt der Inoculation mit dem Zeitpunkt, zu dem die ersten Symptome sichtbar wurden (vgl. auch den Text)

Überträgt man das TMV 7 Tage nach der Induktion, also zu einem Zeitpunkt intensiven Wachstums, so kommt es dennoch zur normalen Symptomausbildung. Das starke Wachstum beeinträchtigt die Virusvermehrung nicht (Abb. 3a).

Die für *Str.* induktiven Außenbedingungen sind Kälte und Kurztag. Temperatur und Tageslänge üben nun einen nachhaltigen Einfluß auf die Aufnahme und die Vermehrung phytopathogener Viren aus (unter anderen LINDNER et al. 1959, POUND und GARCES-OREJUELA 1959). Inoculiert man bei *Str.* unter sonst gleichen Bedingungen einmal bei Kälte und Langtag (+10°, 16 Std-Tag), das andere Mal bei Wärme und Kurztag (+22°, 10 Std-Tag), so findet sich nur im zweiten Fall eine normale Symptomausbildung. Bei Kälte und Langtag bilden sich nur einige kaum zu erkennende gelbliche Flecke. Von den beiden für *Str.* induktiven Außenbedingungen ist es also die niedere Temperatur, die die Virusvermehrung hemmt (Abb. 3b—d).

Es wäre nun denkbar, daß im *Str.*-Blatt unter induktiven Bedingungen eine latente Virusvermehrung stattfindet. Die nach außen hin sichtbare Schädigung des Chlorophyllapparates würde dann eben erst nachträglich bei Einbringen der Pflanzen in nichtinduktive Bedingungen eintreten. Folgende Daten zeigen jedoch, daß bei *Str.* keine nennenswerte latente Virusvermehrung stattfinden kann:

a) *Str.* wurde unter induktiven Bedingungen infiziert und verschiedene Zeitspannen (6 Std bis 4 Wochen) unter induktiven Bedingungen belassen. In allen diesen Fällen ist die Zahl der nach dem Umstellen in nichtinduktive Bedingungen auftretenden Läsionen die gleiche wie bei Inoculationen unter nichtinduktiven Bedingungen, nämlich 150 bis 200 pro Blatt. Die Virussusceptibilität wird also unter induktiven Bedingungen nicht verändert. Wenn man nun aber die Pflanzen unter induktiven Bedingungen infiziert und 8 Wochen, das ist die normale Induktionszeit bei *Str.*, unter ihnen beläßt, ist die Zahl der später unter nichtinduktiven Bedingungen erscheinenden Läsionen auf weniger als 30 pro Blatt herabgesetzt. Da die Virussusceptibilität nicht verändert wird, muß die Ursache hierfür in einer Inaktivierung von Viruspartikeln liegen. Eine Virusvermehrung findet demnach nicht statt.

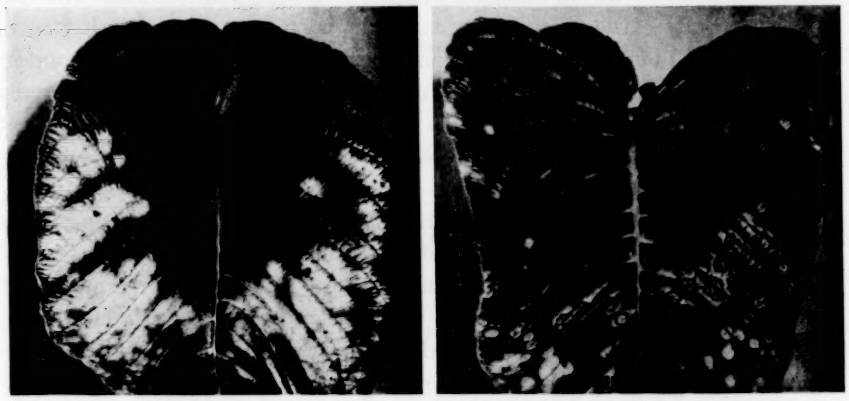
b) Fände während der Blühinduktion eine latente Virusvermehrung statt, so müßten die Läsionen bei ihrem Sichtbarwerden je nach dem Zeitpunkt der Inoculation verschieden groß sein. Je früher die Pflanzen infiziert wurden, desto größer sollten die gelben Areale sein. Das ist nicht der Fall. Nach Abb. 3a wurde z. B. zu Beginn der 1. und der 5. Induktionswoche inoculiert. In beiden Fällen sind die Läsionen bei ihrem Erscheinen nach Induktionsende so groß wie bei Pflanzen, die bei Induktionsende der erstgenannten beiden Serien unter nichtinduktiven Bedingungen infiziert worden waren (Abb. 3b), nämlich einige Millimeter. Im Gegensatz dazu haben Läsionen nach 8 Wochen unter nichtinduktiven Bedingungen einen Durchmesser von 1,5—2,0 cm.

2. Die Wirkung der TMV-Infektionen auf die Blütenbildung. Inoculiert man 14 Tage vor der Induktion, während der Induktion oder eine Woche nach der Induktion, so wird weder das Blattwachstum nach der Induktion noch der Zeitpunkt, zu dem die Inflorescenzen erscheinen, noch die weitere Entwicklung der Blütenstände beeinflußt. Daß die Synthese der Virus-RNS die Bildung der „reproduktiven" RNS nicht stört, könnte außer an der Sistierung der Virusvermehrung unter induktiven Bedingungen auch daran liegen, daß die Virusinfektionen lokal begrenzt sind. Infolgedessen sind noch genügend gesunde Zellen vorhanden, die auf die induktiven Außenbedingungen entsprechend reagieren können.

a) Inoculationen vor der Induktion. Es wurde deshalb auch 4 und 8 Wochen vor Beginn der Induktion inoculiert. Die Viren breiten sich

dann in den Wochen vor der Induktion über ein größeres Areal des Blattes aus. Allerdings weist der Zuwachs an der Blattbasis keine Läsionen auf.

Nach der Induktion zeigten Pflanzen, die 4 Wochen vor der Induktion infiziert worden waren, ein völlig normales Verhalten. Diejenigen dagegen, in denen sich schon 8 Wochen vor der Induktion Viren befunden hatten, zeigten Abweichungen in der Gestaltung der Inflorescenzen. Die erste Inflorescenz war niedrig, wenigblütig und stark gekrümmt, die zweite Inflorescenz war ebenfalls niedriger und besaß ein übermäßig entwickeltes Vorblatt. Das Wachstum des Blattes war normal.



a b

Abb. 4. a Pflanze unter stets nichtinduktiven Bedingungen. b Induzierte Pflanze. Inoculation 4 Wochen vor Induktionsbeginn. Die TMV-Infektion greift auf die Basis über, an der die Inflorescenz-Anlage sichtbar ist

Folgender Befund sei noch hervorgehoben. Bei allen Pflanzen (zwei Serien zu je zehn Exemplaren), die 4 oder 8 Wochen vor der Induktion infiziert worden waren, griffen die Virussymptome nach der Induktion entlang der Mittelrippe und dann entlang der Seitenrippen auch auf die Blattbasis über (Abb. 4b). Auch bei Inoculationen 14 Tage vor der Induktion konnte gelegentlich später ein solches Ausweiten der Infektion beobachtet werden. Bei Pflanzen unter stets nichtinduktiven Bedingungen hingegen blieb die Infektion auch bei einer Beobachtungszeit von bis zu 5 Monaten strikt auf die vordere Blatthälfte beschränkt, ohne auf die Basis überzugreifen (Abb. 4a). Der Versuchsausfall spricht dafür, daß sich im *Str.*-Blatt unter induktiven Bedingungen die Leitungsverhältnisse für RNS oder RNS-Proteide ändern.

b) Stecklingsversuche. 14 Tage vor der Induktion wurden *Str.*-Blätter halbseitig inoculiert. Nach der Induktion wurden die infizierten und die nichtinfizierten Spreitenhälften entlang der Mittelrippe voneinander getrennt und gesondert zu Stecklingen zerschnitten. In

einigen Wochen weiten sich die Infektionen über die gesamte Fläche der Stecklinge hin aus. Unter diesen Bedingungen wird die Bildung von Inflorescenzen bei den infizierten Stecklingen gegenüber den gesunden etwas verzögert, während die Gesamtzahl an oberirdischen Regeneraten in beiden Fällen gleich bleibt (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Regeneratbildung an Stecklingen mit und ohne TMV-Infektion*

Gesamtstecklingszahl in jeder der Versuchsreihen 80; Stecklinge mit Inflorescenz- bzw. mit Blatt- und Inflorescenz-Regeneraten sind in Prozent der Gesamtstecklingszahl angegeben.

TMV-Infektion	+		−	
Wochen nach Stecken	Art der Regenerate		Art der Regenerate	
	Blatt und Inflorescenzen	Inflorescenzen	Blatt und Inflorescenzen	Inflorescenzen
12	85	4	83	7
14	89	8	94	9

Die Versuche mit TMV brachten als wichtigstes Ergebnis, daß bei *Str.* in der Tat ein RNS-System unter induktiven Bedingungen vorübergehend stillgelegt werden kann.

IV. Die metabolische Aktivität der RNS unter induktiven und nichtinduktiven Bedingungen

Eine andere Möglichkeit, die Aktivität der RNS unter induktiven Bedingungen zu untersuchen, ist die Bestimmung des Einbaus von radioaktivem Phosphat in die RNS. Da Wuchsstoffe bei *Str.* die Anlage der Inflorescenzen etwas hinauszögerten (vgl. Tabelle 1), sollte auch die Wirkung von IES und GS auf die Einbaurate von P^{32} in die RNS unter verschiedenen Bedingungen überprüft werden.

P^{32} zeigt einen raschen Aktivitätsabfall (Halbwertszeit 14 Tage). Falls Pflanzen verschiedener Versuchsserien miteinander verglichen werden sollten, mußten infolgedessen Behandlung mit P^{32}, Extraktion und Bestimmung der Radioaktivität zu gleicher Zeit erfolgen. Die Versuche wurden deshalb in zwei Gruppen unterteilt. In der ersten Gruppe wurde die Aufnahme von P^{32} in die RNS unter induktiven und nichtinduktiven Bedingungen sowie die Wirkung von IES und GS auf die Inkorporierung von P^{32} unter induktiven Bedingungen bestimmt (Abb. 5a—d). In der zweiten Gruppe wurde die Wirkung von IES und GS auf den Einbau von P^{32} unter nichtinduktiven Bedingungen untersucht (Abb. 5e—g). Die gemessenen Impulszahlen sind auch von Gruppe zu Gruppe insofern vergleichbar, als in beiden Gruppen eine gemeinsame Größe, die Aufnahme von P^{32} in die RNS unbehandelter Pflanzen unter nichtinduktiven Bedingungen, gegeben ist.

In beiden Gruppen wurden außerdem der Zuwachs in Prozent, das Trockengewicht und der RNS-Gehalt pro Frischgewichtseinheit angegeben. Da beide Versuchsreihen in einem Abstand von nur 24 Std begonnen und abgeschlossen wurden, sind diese Zahlen in Abb. 5 direkt miteinander vergleichbar.

Zuwachs (Abb. 5, *1*). In den 5 Wochen unter induktiven Bedingungen wachsen die Pflanzen mit oder ohne Wuchsstoffbehandlung nicht. In der gleichen Zeitspanne zeigen Pflanzen unter nichtinduktiven Bedingungen einen Zuwachs von 5%, der durch IES und GS noch wesentlich gesteigert werden kann.

Trockengewicht (Abb. 5, *2*). Nach 5 Wochen ist unter induktiven Bedingungen bei unbehandelten und bei mit IES behandelten Pflanzen das Trockengewicht höher als bei GS-Pflanzen und bei Pflanzen unter

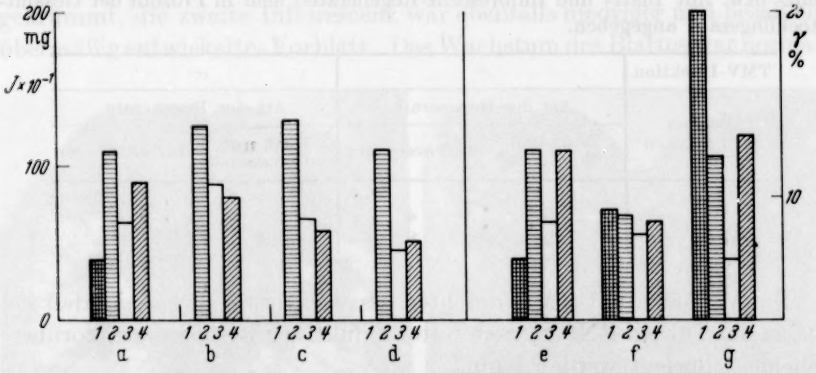


Abb. 5. Die Aufnahme von P^{32} in die RNS unter verschiedenen Bedingungen. Die Versuche erstreckten sich über 5 Wochen. Applikation des P^{32} zu Beginn der 5. Woche, Analysen 5 Tage später. *1* Zuwachs in Prozent der Länge zu Versuchsbeginn; *2* Trockengewicht in Milligramm/Gramm Frischgewicht; *3* RNS-P in γ/Gramm Frischgewicht; *4* Radioaktivität der RNS in Impulsen/Minute/RNS-P $\times 10^{-1}$. 1. Versuchsgruppe: a 5 Wochen unter nichtinduktiven Bedingungen; b 5 Wochen unter induktiven Bedingungen; c 5 Wochen unter induktiven Bedingungen bei IES-Behandlung (1,0 mg pro Pflanze und Woche); d 5 Wochen unter induktiven Bedingungen bei GS-Behandlung (0,1 mg pro Pflanze und Woche). 2. Versuchsgruppe: e 5 Wochen unter nichtinduktiven Bedingungen; f 5 Wochen unter nichtinduktiven Bedingungen bei IES-Behandlung; g 5 Wochen unter nichtinduktiven Bedingungen bei GS-Behandlung (Dosen an IES und GS wie bei c und d)

nichtinduktiven Bedingungen. IES erniedrigt unter nichtinduktiven Bedingungen das Trockengewicht, während GS in dieser Hinsicht zumindest in der hier gesetzten Zeitspanne von 5 Wochen wirkungslos blieb. Bei längerer Applikation erniedrigt auch GS das Trockengewicht unter nichtinduktiven Bedingungen (HESS 1959a).

RNS-Gehalt (Abb. 5, *3*). Der RNS-Gehalt ist wiederum unter induktiven Bedingungen höher als unter nichtinduktiven. Nach Behandlungen mit IES und besonders mit GS sinkt der RNS-Spiegel, obwohl im Falle der IES das Trockengewicht überhaupt nicht, im Falle der GS nur schwach absinkt. Auch unter nichtinduktiven Bedingungen finden sich entsprechende Senkungen des RNS-Gehaltes pro Frischgewichtseinheit durch IES und mehr noch durch GS, wobei nur IES auch das Trockengewicht stark absinken läßt.

Die Aufnahme von P^{32} in die RNS (Abb. 5, *4*). Die metabolische Aktivität der RNS ist unter nichtinduktiven Bedingungen höher als

unter induktiven. IES und GS vermindern unter induktiven Bedingungen die Aktivität zusätzlich. Unter nichtinduktiven Bedingungen wirkt IES ebenfalls aktivitätssenkend, GS dagegen aktivitätserhöhend.

Die Analysendaten lassen erkennen: a) IES und GS verändern den Status der RNS, b) IES und GS wirken in Abhängigkeit von den Außenbedingungen voneinander verschieden, c) die metabolische Aktivität der RNS ist unter induktiven Bedingungen herabgesetzt. Damit übereinstimmend wirkt GS nur unter nichtinduktiven Bedingungen aktivitätserhöhend.

Theoretischer Teil

1. Die Sistierung der vegetativ tätigen RNS-Systeme während der Blühinduktion. Die Ergebnisse der Wachstumsmessungen, der quantitativen RNS-Analysen an Pflanzen unter induktiven und nichtinduktiven Bedingungen, der TMV-Versuche und der Bestimmungen der Aufnahme von P^{32} in die RNS unter verschiedenen Außenbedingungen gestatten folgenden Schluß: Bei *Str.* wird unter induktiven Bedingungen die Aktivität der RNS herabgesetzt. Diese Aktivitätsminderung betrifft die in den Zellen mengenmäßig vorherrschende „vegetative" RNS, während die „reproduktive" RNS davon nicht erfaßt wird. Sie bildet sich ja gerade unter induktiven Voraussetzungen.

Im Verlauf der Untersuchungen wurden einige weitere Fragenkomplexe berührt:

a) Wuchsstoffe und Nucleinsäuren (Galston und Purves 1960). IES und GS führen unter induktiven Bedingungen bei *Str.* eine zusätzliche Aktivitätsminderung der RNS herbei. Es wäre denkbar, daß hiervon auch die „reproduktive" RNS betroffen wird und sich dadurch die nach Applikation der beiden Substanzen beobachtete leichte Blühverzögerung erklären ließe.

b) Virusbedingte Antholyse und RNS. Vielfach konnte bei Virusbefall eine Antholyse, d. h. ein Rückschlagen der Blütenentwicklung in Richtung auf den vegetativen Status festgestellt werden (Bos 1957, Frazier und Posnette 1957, Valenta 1957/58, Koot und Dorst 1958). Neben Störungen des Wuchsstoffhaushaltes zieht Bos als weitere Erklärungsmöglichkeit für das Auftreten der Antholyse eine Veränderung in den Nucleinsäuren-Systemen der befallenen Pflanzen in Betracht. Auch nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann in Erwägung gezogen werden, ob nicht die Vermehrung der Virus-Nucleinsäuren in manchen Fällen die Ausbildung der an den Vorgängen der Blütenbildung mitwirkenden RNS-Systeme stört und dadurch das Auftreten der antholytischen Symptome fördert. Bei *Str.* selbst tritt eine Beeinflussung der Blütenbildung nur unter besonderen experimentellen Voraussetzungen ein, weil hier die Virusvermehrung unter induktiven Bedingungen unterbunden wird.

2. Die Blühinduktion als Folge eines Wechselspiels zwischen RNS-Systemen mit verschiedener morphogenetischer Potenz. *a) Korrelationen zwischen RNS-Systemen mit verschiedener morphogenetischer Potenz.* Bei *Str.* bildet sich nach allen bisher vorliegenden Daten unter induktiven Bedingungen ein spezifisch blühförderndes RNS-System (Hess 1959, 1961), während gleichzeitig die vegetativ tätige RNS vorübergehend

stillgelegt wird. Bei den vielseitigen Korrelationen in lebenden Organismen kann eine Wechselwirkung zwischen beiden Vorgängen kaum ausbleiben. Eine einfache Beziehung ist folgende: Die RNS-Bausteine, die bislang für die RNS-Synthese im Zuge des Wachstums verwendet wurden, werden bei einem Wachstumsstopp frei. Sie können nun zur Synthese der „reproduktiven" RNS benutzt werden. Daß RNS-Bausteine unter Umständen die Blütenbildung fördern können, zeigten TASHIMA und IMAMURA (1954). Auf diese Weise könnte eine Blockierung der „vegetativen" RNS bei *Str.* die Synthese der „reproduktiven" RNS fördern. Dabei ist es durchaus denkbar, daß die „reproduktive" RNS schon vor der Induktion in den Zellen vorlag, nur eben in so geringer Konzentration, daß sie sich nicht zu manifestieren vermochte. Die *Str.*-Versuche lassen diese Möglichkeit offen. Die Wirkung der induktiven Außenbedingungen bestünde dann in der Verschiebung eines Gleichgewichtes zwischen zwei RNS-Systemen. Daß solche quantitativen Veränderungen zu morphogenetischen Auswirkungen führen könnten, wird etwa von BÜNNING (1953, S. 232) in Erwägung gezogen.

b) Die Beteiligung von RNS-Systemen verschiedener morphogenetischer Potenz an Blühhemmung und Blühförderung. Der Blühhormontheorie (MELCHERS 1952, LANG 1959, DOORENBOS und WELLENSIEK 1959) stellte unter anderen v. DENFFER (1950) eine Blühhemmtheorie gegenüber. Nach ihr ist die Wirkung induktiver Außenbedingungen in der Beseitigung einer Blühhemmung, nicht in der Bildung eines Blühhormons zu suchen. Blühhormon- und Blühhemmtheorie schließen sich nun gegenseitig nicht aus. So konnte HAUPT (1955, 1958) bei *Pisum* blühhemmende und blühfördernde Einflüsse nachweisen.

Faktoren, die in manchen Fällen eine Blühhemmung auslösen, sind die Auxine, während umgekehrt die Gibberelline vielfach blühfördernd wirken. Doch kann man weder die Auxine mit den Blühhemmstoffen noch die Gibberelline mit den Blühhormonen gleichsetzen (LANG 1959, TSCHAILACHJAN 1959).

Die Untersuchungen an *Str.* liefern nun auf anderem biochemischem Niveau eine stoffliche Basis für ein Zusammenspiel hemmender und fördernder Faktoren. Dabei seien lediglich Parallelen aufgezeigt und keinesfalls substantielle Zusammenhänge mit dem „Blühhemmstoff" oder dem „Blühhormon" konstruiert: Bei *Str.* wird unter induktiven Bedingungen das „vegetative" RNS-System stillgelegt und damit *eine* Möglichkeit der Blühhemmung beseitigt. Erst dann ist die Bildung eines „reproduktiven" RNS-Systems möglich, das eine spezifische Blühförderung bewirkt.

Bei der Vernalisation der Pflanzen fördert auffallenderweise Kälte die Blütenbildung (letzte Zusammenfassung CHOUARD 1960). Viel eher sollte man nach der van t'Hoffschen Regel erwarten, daß Kälte die

Synthese eines etwa blühfördernden Prinzips verlangsamt. Die Erklärung im Sinne der Blühhormontheorie ist die, daß sich bei der Vernalisation Vorgänge mit verschiedenen Temperaturkoeffizienten überlagern. Nur bei einer bestimmten niedrigen Temperatur kommt als Resultante der Einzelprozesse eine optimale Wirkung auf die Blütenbildung zustande (MELCHERS und LANG 1948). v. DENFFER dagegen möchte die Wirkung der niedrigen Temperatur darin sehen, daß die Synthese eines Faktors verlangsamt wird, der die vegetative Entwicklung fördert und die reproduktive dadurch hemmt.

Auch hier sei die Parallele zu den Versuchen an *Str.* gezogen. Die entscheidende Außenbedingung für die Stillegung der „vegetativen" RNS ist die niedere Temperatur, denn im Kurztag (der zweiten für *Str.* induktiven Bedingung) vermag *Str.* noch zu wachsen und auch Viruspartikel zu bilden. Unter induktiven Bedingungen wird aber nicht nur im Sinne der Blühhemmtheorie die das vegetative Wachstum stimulierende RNS inaktiviert, sondern es wird gleichzeitig auch „reproduktive" RNS gebildet. Bei *Str.* findet sich demnach eine Überlagerung verschiedener Prozesse, was zumindest den Grundprinzipien auch der Blühhormontheorie entspricht. Die für *Str.* induktive Temperatur ist niedrig genug, um die „vegetative" RNS zu blockieren, und hoch genug, um die Bildung der „reproduktiven" RNS noch zu ermöglichen.

Inwieweit sich diese Hypothese an anderen, in erster Linie vernalisationsbedürftigen Pflanzen bestätigen läßt, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Für *Str.* jedenfalls besteht Grund zu der Annahme, daß sich an dem Übergang von der vegetativen zu der reproduktiven Entwicklungsphase ein Wechselspiel von RNS-Systemen verschiedener morphogenetischer Potenz entscheidend beteiligt.

Zusammenfassung

1. Während der Blühinduktion bleibt bei *Str.* der Gehalt an DNS, RNS und Protein gleich. Obwohl Pflanzen unter induktiven Bedingungen mehr RNS besitzen können als solche unter nichtinduktiven Bedingungen, wachsen sie nicht.

2. Während der Blühinduktion durchläuft der Wuchsstoffgehalt bei *Str.* ein Minimum (HESS 1958). Dennoch sind Wuchsstoffe nicht die das Wachstum begrenzenden Faktoren, denn auch durch Applikation von IES und GS kann unter induktiven Bedingungen kein Wachstum ausgelöst werden.

3. IES und GS wirken leicht verzögernd auf das Erscheinen der Inflorescenzen. Neben anderen Wirkungen auf das Wachstum nach der Induktion ruft GS partielle Schlitzblätterigkeit der Blüten hervor.

4. Der Stamm *flavum* des TMV vermehrt sich in *Str.* unter induktiven Bedingungen nicht. Inoculiert man unter induktiven Bedingungen,

so erscheinen die Symptome der Virusinfektion erst nach Abschluß der Induktion, und zwar nach Zeitpunkt und Größe so, als wäre unmittelbar am Induktionsende unter nichtinduktiven Bedingungen inoculiert worden. Solche nichtinduktiven Bedingungen gestatten eine Virusvermehrung.

Auswirkungen der Virusinfektion auf die Blütenbildung finden sich nur unter besonderen experimentellen Voraussetzungen.

5. Unter induktiven Bedingungen wird in die RNS von *Str.* weniger P^{32} aufgenommen als unter nichtinduktiven. Während der Blühinduktion ist also die metabolische Aktivität der RNS vermindert.

Die Wirkung von IES und GS auf den Gehalt an RNS und die Aufnahme von P^{32} in die RNS unter verschiedenen Außenbedingungen wurde untersucht.

6. Die experimentellen Daten gestatten den Schluß, daß bei *Str.* unter induktiven Bedingungen die vegetativ tätigen RNS-Systeme vorübergehend stillgelegt werden.

7. Die Versuchsergebnisse werden im Zusammenhang mit der Blühhormontheorie und der Blühhemmtheorie diskutiert. In Übereinstimmung mit den Prinzipien beider Theorien scheint sich bei *Str.* ein Wechselspiel zwischen RNS-Systemen mit verschiedenen morphogenetischen Potenzen entscheidend an dem Übergang von der vegetativen in die reproduktive Entwicklungsphase zu beteiligen.

Literatur

Ein Teil der zu der vorliegenden Arbeit verwendeten Literatur stimmt mit der in einer früheren Veröffentlichung (HESS 1961) bereits angegebenen Literatur überein und wurde deshalb hier nicht nochmals aufgeführt.

BOS, L.: Heksenbezemverschijnselen, een pathologisch-morfologisch onderzoek. Meded. Landbouwhoogeschool Wageningen **57**, 1—79 (1957).

CHOUARD, P.: Vernalization and its relation to dormancy. Ann. Rev. Plant Physiol. **11**, 191—238 (1960).

DENFFER, D. v.: Blühhormon oder Blühhemmung? Neue Gesichtspunkte zur Physiologie der Blütenbildung. Naturwissenschaften **37**, 296—301, 317—321 (1950).

DOORENBOS, J., and S. J. WELLENSIEK: Photoperiodic control of floral induction. Ann. Rev. Plant Physiol. **10**, 147—184 (1959).

FRAZIER, N. W., and A. F. POSNETTE: Transmission and host-range studies of strawberry green-petal virus. Ann. appl. Biol. **45**, 580—588 (1957).

GALSTON, A. W., and W. K. PURVES: The mechanism of action of auxin. Ann. Rev. Plant Physiol. **11**, 239—276 (1960).

HAUPT, W.: Förderung der Blütenbildung durch Hemmung der vegetativen Entwicklung. Planta (Berl.) **46**, 403—407 (1955).

— Die Blütenbildung bei *Pisum sativum*. Z. Bot. **46**, 242—256 (1958).

HESS, D.: Die Regulatoren des Streckungswachstums bei *Streptocarpus wendlandii* Utrecht und ihre Veränderungen während der Blühinduktion. Planta (Berl.) **50**, 504—525 (1958).

Hess, D.: Die Wirkung von Gibberellinsäure auf Entwicklung, Stickstoff- und Nucleinsäuren-Gehalt von *Streptocarpus wendlandii*. Naturwissenschaften **46**, 408—409 (1959a).

— Die selektive Blockierung eines an der Blühinduktion beteiligten Ribosenucleinsäure-Eiweißsystems durch 2-Thiouracil. Planta (Berl.) **54**, 74—94 (1959).

— Die Beteiligung spezifischer Ribonucleinsäure an der Blühinduktion. Planta (Berl.) **57**, 13—28 (1961).

Koot, I. Y. v., en H. J. van Dorst: De invloed van enkele virussen op de bloemvorming bij komkommer. T. Plantenziekten **64**, 432—439 (1958).

Lang, A.: Induction of reproductive growth in plants. Fourth Internat. Congr. of Biochemistry. Vol. 6; Biochemistry of morphogenesis, p. 126—140. 1959.

— The influence of gibberellin and auxin on photoperiodic induction. In: Photoperiodism and related phenomena in plants and animals, p. 392—350. Washington: Amer. Assoc. Advanc. Sci. 1959.

Lindner, R. C., H. C. Kirkpatrick and T. E. Weeks: Some factors affecting the susceptibility of cucumber cotyledons to infection by tobacco mosaic virus. Phytopathology **49**, 78—88 (1959).

Melchers, G.: The physiology of flower-initiation. Dokumentationsstelle der Max-Planck-Ges. Göttingen 1952.

—, u. A. Lang: Die Physiologie der Blütenbildung. Biol. Zbl. **67**, 105—174 (1948).

Pound, G. S., and C. Garces-Orejuela: Effect of photoperiod on the multiplication of turnip mosaic virus in rape. Phytopathology **49**, 16—17 (1959).

Resende, F., and M. J. Viana: Some effects of synthetic auxins and antiauxins on the floral state. Bol. Soc. port. Cienc. natur. **4**, 74—78 (1952).

Tschailachjan, M. Ch.: Hormonale Faktoren des Pflanzenblühens. Biol. Zbl. **77**, 641—662 (1958).

Valenta, V.: Potato witches' broom virus in Czechoslovakia. Proc. 3. Conf. on Potato Virus Diseases, p. 246—250, 1957.

— A new yellow virus causing flower proliferations in the dodder, *Cuscuta campestris* Yunck. Phytopathology Z. **33**, 316—318 (1958).

Priv.-Doz. Dr. Dieter Hess,
(13b) München, Max Planck-Institut für Zellchemie, Karlstr. 23

Planta 57, 44—50 (1961)

BEOBACHTUNGEN ZUM ANTAGONISMUS ZWISCHEN ASPARAGIN UND β-ALANIN

Von

A. BETZ

(Eingegangen am 19. April 1961)

Die Aminosäure β-Alanin kann vielen Hefestämmen das zu ihrem Wachstum erforderliche Vitamin Pantothensäure vollwertig ersetzen, denn diese Stämme sind nur deshalb auf die Zufuhr von Pantothensäure angewiesen, weil sie die Fähigkeit zur Synthese der Komponente β-Alanin verloren haben. Die Verwertung von β-Alanin aber wird durch eine ganze Reihe von Antagonisten behindert (WILLIAMS und ROHRMANN 1936, NIELSEN 1944, NIELSEN, HARTELIUS und JOHANSEN 1944, HARTELIUS 1946, BETZ 1960a, b). Schon länger bekannt ist dieses Verhalten vom Asparagin; tatsächlich aber gehört die Mehrzahl aller bisher darauf geprüften Aminosäuren zu diesen Antagonisten.

Eine β-alaninbedürftige Hefe, z.B. der von uns vielfach benutzte Stamm 9080 (ATCC), ist darauf angewiesen, die Aminosäure β-Alanin von außen, aus dem Kultursubstrat, aufzunehmen. Das β-Alanin kann aber nicht verwertet werden, wenn die Nährlösung gleichzeitig einen Überschuß an einer der antagonistisch wirkenden Verbindungen enthält, wenn also z.B. Asparagin zugegen ist. Die Antagonisten behindern nur Hefezellen, welche das β-Alanin von *außen* aufnehmen müssen; sie sind völlig wirkungslos gegenüber solchen, deren Bedarf aus dem eigenen Stoffwechsel gedeckt wird (BETZ 1960a, b).

Dieses Verhalten, daß nämlich eine Verlustmutante in ihrer Fähigkeit, die ihr fehlende Aminosäure aus dem Substrat aufzunehmen und zu verwerten, durch einen Überschuß an anderen Aminosäuren behindert wird, scheint ein allgemeineres Phänomen zu sein. So berichtet MANDELSTAM (1956), daß eine auf die Zufuhr von basischen Aminosäuren angewiesene Mutante von *Escherichia coli* diese nicht verwerten konnte, wenn sie ihr im Nährsubstrat zusammen mit Diaminen angeboten wurden. Nach DAVIS (1955) beobachteten MATHIESON und CATCHESIDE (unveröffentlicht), daß eine lysinbedürftige Mutante von Neurospora diese Aminosäure nicht verwerten konnte, wenn ihre Nährlösung zugleich Arginin enthielt.

Da eine solche Behinderung nur bei Organismen auftritt, welche die betreffene Aminosäure von *außen* aufnehmen müssen, vertreten die amerikanischen Autoren die naheliegende Vorstellung, der Antagonist störe den Aufnahmevorgang, also das Eindringen der betreffenden

Aminosäure in das Innere der Zellen. Aus eigenen, noch im einzelnen mitzuteilenden Versuchen gewannen wir den Eindruck, daß β-Alanin nicht nur bis zum Konzentrationsausgleich in die Zellen aufgenommen wird, sondern in größerer Menge, und daß es dort nicht in diffusibler, frei beweglicher Form verbleibt, sondern teilweise gebunden wird. Wenn aber dem Eindringen von β-Alanin unmittelbar eine zur Bindung und Speicherung führende weiterverarbeitende Reaktion folgt, dann muß es vorläufig völlig offenbleiben, ob die Antagonisten den Vorgang der Stoffaufnahme selbst oder aber die zur Festlegung führenden weiteren Reaktionen blockieren.

Methode

Hefezellen vom Stamm 9080 (ATCC) wurden 24 Std in einer vollständigen Nährlösung, welche aber weder β-Alanin noch Pantothensäure enthielt, vorkultiviert. Die Nährlösung war lediglich einmal 30 min im strömenden Dampf sterilisiert worden, so daß auch der dem β-Alanin entsprechende Wuchsstoff (vgl. Betz 1960a, b) nur in minimalen Mengen zugegen war. Auf diese Weise wurde die Hefe an Pantothensäure verarmt. Nach mehrmaligem Auswaschen auf der Zentrifuge wurden die Zellen, eventuell nach einer weiteren Vorbehandlung, variierten Bedingungen ausgesetzt, unter denen sie Gelegenheit haben sollten, von außen gebotenes β-Alanin aufzunehmen. In einigen Versuchen folgte eine weitere Periode, in welcher β-Alanin, wiederum unter verschiedenen Bedingungen, ans Außenmedium abgegeben werden konnte. Schließlich wurden alle Proben wieder sorgfältig gewaschen, auf gleiche Zelldichte eingestellt und in vorbereitete β-alaninfreie Nährlösung eingeimpft. Das Wachstum in diesem Vitamin-Mangel-Medium dient als Maß für die Intensität der Aufnahme und der Exosmose von β-Alanin unter den verschiedenen Bedingungen.

Einzelheiten über die Zusammensetzung der Nährlösung und die Messung des Hefewachstums wurden in meiner früheren Arbeit (1960a) angegeben.

Ergebnisse

An Pantothensäure verarmte Hefezellen können nicht wachsen, wenn ihnen weder β-Alanin noch Pantothensäure zur Verfügung gestellt wird. Hatten die Zellen aber Gelegenheit gehabt, eine dieser Substanzen aufzunehmen, so können sie sich anschließend, auch ohne erneute Aufnahme dieser Vitamine, beträchtlich vermehren. So beobachteten wir nach einer dreistündigen Inkubation mit β-Alanin anschließend im Mangelmedium eine Vermehrung der Hefemenge auf das 30—40fache.

In einem Einzelversuch (Tabelle 1, Spalte 2) hatte sich die Hefemenge in 15 Std auf das 29fache vermehrt. In diesem Fall war der Wachstumstest mit einer Hefesuspension von 24 γ/ml (Trockengewicht) gestartet worden. Nimmt man an, daß das Trockengewicht etwa 25% des Frischgewichtes ausmacht (nach Ingram, 1950, ist mit 15—35% zu rechnen), so dürften die Zellen etwa die dreifache Menge an Wasser mitgebracht haben. Pro Milliliter des Versuchsansatzes war demnach durch die Hefe nur 0,075 mm^3 Wasser eingebracht worden. Waren die Hefezellen zuvor mit einer 10^{-6} molaren Lösung von β-Alanin inkubiert worden,

und hätten sie dieses nur bis zum Konzentrationsausgleich aufgenommen, so stünde ihnen im Testansatz nur eine etwa $8 \cdot 10^{-11}$ molare Lösung dieser Aminosäure zur Verfügung. Selbst wenn man die Verluste durch Exosmose während des dreimaligen Auswaschens auf der Zentrifuge nicht berücksichtigt, so ist mit dieser geringen Menge an β-Alanin kein so beträchtliches Wachstum zu erwarten. Im Versuch der Tabelle 3 war zwischen der Inkubation mit β-Alanin und dem Wachstumstest noch eine dreistündige Inkubation in β-alaninfreier Lösung und ein weiterer Waschprozeß eingeschaltet. Aber selbst wenn man eine Exosmose während dieser Zeiten und eine Verdünnung durch das Wachstum der Zellen vernachlässigt, bleibt auch hier eine Verdünnung im Verhältnis 1:4000 zu berücksichtigen. Es ist nicht verständlich, wie die Hefe sich mit dieser geringen Vitaminmenge innerhalb von 10 Std auf das neunfache vermehren konnte.

Aus diesen Betrachtungen ziehen wir den Schluß, daß verarmte Hefezellen β-Alanin nicht nur bis zum Konzentrationsausgleich aufnehmen, sondern daß sie größere Mengen davon binden. Man kann damit rechnen, daß dieses zusätzlich aufgenommene β-Alanin unmittelbar in Pantothensäure eingebaut wird und daß diese wiederum zur Synthese von Coenzym A dient. Dann aber ist die *Aufnahme* der Aminosäure β-Alanin unmittelbar verknüpft mit Reaktionen, welche zu ihrer *Festlegung* und *Speicherung* führen.

Die Bedingungen, unter welchen Hefezellen sich so mit β-Alanin anreichern, daß sie während ihres späteren Wachstums davon zehren können, sollte der in Tabelle 1 dargestellte Versuch näher prüfen.

Tabelle 1

Vorbehandlung	Anzucht in Nährlösung H, 24 Std Waschen auf der Zentrifuge				
Inkubation (3 Std)	Nährlösung H			N-freie Nährlösung H	
		+ β-Alanin (10^{-6} M)	+ β-Alanin (10^{-6} M) + Asparagin (m/50)		+ β-Alanin (10^{-6} M)
Vermehrungsrate der Hefe in Vitaminmangelmedium (15 Std)	5	29	5	6	38

Die Hefezellen konnten die für ihr späteres kräftiges Wachstum in vitaminfreier Lösung notwendige Menge an β-Alanin nur dann aufnehmen, wenn es ihnen in Abwesenheit des Antagonisten Asparagin angeboten wurde. Sie konnten aber diese Aminosäure auch aus einer Nährlösung aufnehmen, welche ihnen aus Mangel an einer weiteren Stickstoffquelle kein wesentliches Wachstum erlaubte.

Die Frage, ob die Aufnahme von β-Alanin tatsächlich unabhängig von einer gleichzeitigen (Netto-) Proteinsynthese erfolgt, sollte unter schärferen Bedingungen, nämlich noch an zuvor an Stickstoff verarmten Zellen geprüft werden. Außerdem sollte festgestellt werden, ob Asparagin die Verwertung von β-Alanin auch dann zu blockieren vermag, wenn es nicht gleichzeitig, sondern vor oder nach dieser Verbindung dargereicht wird. Es könnte ja möglich sein, daß zuvor angebotenes Asparagin bereits die Orte besetzt hätte, welche für eine Aufnahme von β-Alanin in Frage kommen, oder es könnte, nachträglich geboten, diese Aminosäure wieder verdrängen. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2

Vorbehandlung	Anzucht in Nährlösung H, $26^1/_2$ Std Waschen auf der Zentrifuge 50 min			
1. Inkubation (3 Std)		Nährlösung H		N-freie Nährlösung
		+ β-Alanin (10^{-6} M)	+ Asparagin (m/50)	
2. Inkubation (3 Std)		Nährlösung H		N-freie Nährlösung + β-Alanin
		+ Asparagin	+ β-Alanin	
Vermehrungsrate der Hefe in Vitaminmangelmedium (11 Std)	3	7	16	13

Wie die Tabelle 2 zeigt, verhindert ein Mangel an Stickstoff die Aufnahme von β-Alanin nicht, auch dann nicht, wenn der Stickstoffhungerzustand schon 3 Std vorher bestanden hat, wenn also damit zu rechnen ist, daß etwaige Reserven längst verbraucht sind. Ein Vergleich der Spalten 2 und 3 scheint auf eine Exosmose von β-Alanin während der Nachbehandlung mit Asparagin hinzuweisen. Dieser Vergleich aber ist nicht ganz stichhaltig. Die Zellen, deren Vermehrungsrate in Spalte 3 angegeben ist, hatten bis unmittelbar vor Beginn des Wachstumstestes im Kontakt mit der β-alaninhaltigen Lösung gestanden, während im Ansatz der Spalte 2 die entsprechende Behandlung schon 3 Std früher beendet war. In dieser Zeit konnte, auch unabhängig von der Gegenwart des Asparagins, etwas β-Alanin aus den Zellen herausdiffundiert sein. Außerdem konnte die Konzentration an β-Alanin inzwischen auch durch Vermehrung der Zellen verdünnt worden sein. Dies ist um so wahrscheinlicher als Fehlerquelle zu vermuten, als ja sämtliche Ansätze erst unmittelbar vor Beginn des Wachstumstestes auf gleiche Dichte und damit auf gleiche Zellenzahl gebracht worden waren. Ein weiterer Versuch sollte deshalb die Bedingungen noch exakter fassen.

Ein Vergleich der vier Spalten in Tabelle 3 lehrt, daß es völlig gleichgültig ist, ob die Hefezellen vor oder nach der Behandlung mit β-Alanin mit Asparagin zusammengebracht werden oder auch überhaupt nicht. Weder hindert eine Vorbehandlung mit Asparagin die spätere Aufnahme von β-Alanin, noch läßt sich dieses nachträglich durch den Antagonisten Asparagin wieder auswaschen.

Dies bedeutet allerdings nicht, daß keine Exosmose von β-Alanin stattfindet, denn eine solche ist aus den früheren Versuchen (Tabelle 2) durchaus anzunehmen. Aber ihr Ausmaß wird durch eine Behandlung mit Asparagin nicht gesteigert.

Tabelle 3

Vorbehandlung	Anzucht in Nährlösung H, 24 Std			
1. Inkubation (3 Std)	Nährlösung H		Nährlösung H + Asparagin (m/50)	
2. Inkubation (3 Std)	Nährlösung H + 10^{-6} M β-Alanin			
3. Inkubation (3 Std)	N-freie Nährlösung + Asparagin (m/50)		N-freie Nährlösung	Nährlösung H
Vermehrungsrate der Hefe im Vitaminmangelmedium (10 Std)	8,3	7,9	8,6	8,8

Der Antagonist kann die Anreicherung mit β-Alanin demnach nur dann behindern, wenn er *gleichzeitig* mit dieser Aminosäure auf die Zellen einwirkt. Man könnte dieses Ergebnis im Sinne der amerikanischen Autoren so deuten, daß man annimmt, der Antagonist Asparagin blokkiere eben lediglich den Aufnahmevorgang. Diese Deutung ist aber nicht stichhaltig. Wie eingangs gezeigt wurde, ist anzunehmen, daß die Hefezellen weit mehr β-Alanin aufgenommen haben, als dem Konzentrationsausgleich entspricht. Und wie unsere Versuche zweifelsfrei zeigen, muß ein Teil dieses β-Alanins in einer nicht mehr exosmierenden Form vorliegen. Wenn aber die Aminosäure β-Alanin in den Zellen angereichert wird, und wenn sie zum anderen unmittelbar nach der Aufnahme teilweise in einer veränderten, nicht mehr exosmierenden Form vorliegt, dann muß während der Anreicherungsphase ein Bindungs- und Speicherungsvorgang stattgefunden haben. Gerade beim β-Alanin ist durchaus bekannt, um welche Verbindungen es sich dabei handelt. Als Komponente der Pantothensäure, welche es ja bei Hefezellen vollwertig ersetzen kann, wird β-Alanin zunächst zum Aufbau von Pantothensäure verwendet. Novelli und Lipmann haben 1950 gezeigt, daß Hefezellen in Gegenwart von Pantothensäure ihren Gehalt an Coenzym A

vervielfachen. Zweifellos dient auch das β-Alanin, besonders dann, wenn es verarmten Zellen geboten wird, einer Synthese von Coenzym A. Und es ist naheliegend, daß es in dieser Form nicht mehr aus der Zelle herausdiffundiert.

Im Falle des β-Alanins ist also damit zu rechnen, daß ein Teil der aufgenommenen Moleküle sofort gebunden und weiter verarbeitet wird. Wenn aber die Aufnahme in die Zelle und die Prozesse der Weiterverarbeitung gleichzeitig ablaufen, dann kann nicht von vornherein gesagt werden, ein Antagonist behindere lediglich den Aufnahmeprozeß. Da die Verarbeitung des β-Alanins, also die Synthese von Pantothensäure und Coenzym A, diese Aminosäure in nichtdiffusibler Form festlegt, sind diese Reaktionen der Weiterverarbeitung dafür verantwortlich, daß größere Mengen aufgenommen werden, als dem Konzentrationsausgleich entspräche. Die Aufnahme von wirksamen Mengen hängt deshalb von der Speicherungsreaktion ab. Es ist zumindest gleich wahrscheinlich, wenn nicht sogar naheliegender, daß ein Antagonist nicht den Aufnahmevorgang selbst, sondern eben die zur Speicherung und damit zum Wirksamwerden führenden Reaktionen blockiert.

Die einzelnen Reaktionsschritte, welche schließlich zur Bindung des β-Alanins im Molekül der Pantothensäure und des Coenzyms A führen, sind noch nicht in ihre Zwischenstufen aufgegliedert. Es läßt sich deshalb nicht ausschließen, daß dabei vielleicht auch Reaktionen beteiligt sind, welche neuerdings (Monod 1959, Clarke u. Mitarb. 1959) besonderen und spezifischen „Permeasen" zugeschrieben werden. Beim augenblicklichen Stand unseres Wissens scheint es richtiger, zunächst auf den Bindungsvorgang hinzuweisen. Denn durch die Festlegung von β-Alanin im Molekül der Pantothensäure und des Coenzyms A wird ein Konzentrationsgefälle zwischen der Außenlösung und den Reaktionsorten innerhalb der Zelle geschaffen und aufrechterhalten. Eine Anreicherung des β-Alanins kann auf diese Weise ohne Dazutun eines spezifischen Transportmechanismus erfolgen.

Zusammenfassung

Hefezellen können aus dem Nährmedium soviel β-Alanin aufnehmen, daß sie damit auch nach Übertragung in ein davon freies Substrat beträchtlich wachsen können. Diese Aufnahme von β-Alanin ist auch in Abwesenheit einer Stickstoffquelle und nach Verarmung an Stickstoff möglich. Asparagin hemmt als Antagonist des β-Alanins dessen Verwertung nur dann, wenn beide Verbindungen gleichzeitig geboten werden. Es kann, wenn es vor der Inkubation mit β-Alanin geboten wird, dessen spätere Aufnahme nicht behindern, und es kann, nachträglich geboten, die Exosmose nicht steigern. Aus diesen Beobachtungen wird geschlossen, daß β-Alanin nicht nur bis zum Konzentrationsausgleich

in die Zelle eindringt, sondern teilweise in höhermolekulare Verbindungen (Pantothensäure, Coenzym A) eingebaut und damit festgelegt wird. Der Vermutung anderer Autoren, wonach antagonistisch wirkende Aminosäuren lediglich den Aufnahmevorgang behindern sollen, wird entgegengehalten, daß im Falle des Antagonismus zwischen β-Alanin und Asparagin viel eher mit einer Behinderung der Weiterverarbeitung zu rechnen ist.

Herrn cand. rer. nat. Th. Hartmann danke ich für seinen energischen Einsatz bei der Durchführung der Versuche, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für materielle Unterstützung.

Literatur

Betz, A.: Das Pantothensäurebedürfnis der Hefe. Arch. Mikrobiol. **35**, 1—33 (1960).

— Aminosäuren als Stickstoffquelle für pantothensäurebedürftige Hefezellen. Ber. dtsch. bot. Ges. **73**, 296—304 (1960).

Clarke, P. H., and P. M. Meadow: Evidence for the occurrence of permeases for tricarboxylic acid cycle intermediates in *Pseudomonas aeroginosa*. J. gen. Microbiol. **20**, 144—155 (1959).

Davis, B. D.: Intermediates in amino acid biosynthesis. Advanc. Enzymol. **16**, 247—312 (1955).

Hartelius, V.: Glutamic acid, aspartic acid, asparagine and glutamine as antigrowth substances for β-alanine. C. R. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **24**, 185—222 (1946).

Ingram, M.: An introduction to the biology of yeasts. London 1955.

Mandelstam, J.: Factors affecting the passage of basic amino acids into coliform bacteria. Biochim. biophys. Acta **22**, 313—323 (1956).

Monod, J.: Biosynthese eines Enzyms. Information, Induktion, Repression. Angew. Chem. **71**, 685—691 (1959).

Nielsen, N.: Über die Antiwuchsstoffwirkung von α-Aminosäuren auf Hefe. Naturwissenschaften **32**, 80—81 (1944).

— V. Hartelius and G. Johansen: Über die Antiwuchsstoffe der Pantothensäure und des β-Alanins. C. R. Lab. Carlsberg, Sér. physiol. **24**, 39—54 (1944).

Novelli, G. D., and F. Lipmann: The catalytic function of coenzyme A in citric acid synthesis. J. biol. Chem. **182**, 213—228 (1950).

Williams, R. J., and R. Rohrmann: β-alanine and "bios". J. Amer. chem. Soc. **58**, 695 (1936).

Dr. A. Betz, Braunschweig, Humboldtstr. 1,
Botanisches Institut der Technischen Hochschule

Planta 57, 51—70 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DESMIDIACEEN

VI. Mitteilung

DER EINFLUSS VON ANTIBIOTICA AUF DIE CHLOROPLASTENSTRUKTUR BEI *MICRASTERIAS ROTATA*

Von

HORST DRAWERT und MARIANNE MIX

Mit 23 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. März 1961)

1. Einleitung

Nach den Beobachtungen von v. EULER bilden bei Gegenwart von Streptomycin (SM) sich entwickelnde Keimlinge höherer Pflanzen im Licht kein Chlorophyll aus. Allem Anschein nach muß das SM bereits in die Synthese des Chlorophylls eingreifen; denn grüne Plastiden der Gerste bleichen durch SM-Behandlung nachträglich nicht mehr aus. Normal etiolierte Blätter von *Brassica* und *Lactuca* bleiben blaß, wenn sie in einer SM-Lösung dem Licht ausgesetzt werden (v. EULER, BRACCO und HELLER 1948). Nach DE DEKEN-GRENSON (1955) soll allerdings SM das Ergrünen etiolierter Plastiden nicht verhindern. Der „Bleichungseffekt" des SM und einiger anderer Antibiotica, z. B. Chloramphenicol, wurde immer wieder für die Plastiden der höheren Pflanzen bestätigt (SIGNOL 1954, DE DEKEN-GRENSON 1955, LEDOYEN 1957, SIEGELMAN und HENDRICKS 1957, SATO 1959, KANDELER 1959, 1960, ROSSNER 1960, weitere Literatur bei BRIAN 1957). Von besonderem Interesse ist auch das Ausbleiben einer Chlorophyllbildung bei Gegenwart von SM und Lichtabschluß in den Kotyledonen von *Pinus jeffreyi*, die normalerweise im Dunkeln ergrünen (BOGORAD 1950).

Im Zusammenhang mit unseren eigenen Untersuchungen ist die Wirkung von SM und von anderen Antibiotica auf niedere Pflanzen zu erwähnen. Als erste berichten PROVASOLI, HUTNER und SCHATZ (1948) über eine Wachstumshemmung von *Euglena gracilis* durch SM im Licht. Ferner werden permanent chlorophyllfreie Stämme erhalten, die bei entsprechendem Substrat keine Wachstumsbeeinträchtigungen zeigen. Auch in den folgenden Arbeiten ist *Euglena* das Hauptversuchsobjekt (PROVASOLI, HUTNER und PINTNER 1951, JÍROVEC 1949, E. und O. PRINGSHEIM 1952, VÁVRA 1956, WOLKEN 1956, HUZISIGE u. Mitarb. 1957, ROSEN und GAWLIK 1959, DE DEKEN-GRENSON 1959, DE DEKEN-GRENSON und GODTS 1960). Die Antibiotica üben zum Teil auch auf

andere Protophyten, z.B. weitere Flagellaten, *Phormidium*, *Chlorella* u.a., eine bleichende Wirkung aus (JÍROVEC 1949, DUBÉ 1952, BOUILLENNE-WALRAND 1959, AARONSON und SCHER 1960). Bisher sind aber nur bei *Euglena gracilis* var. *bacillaris* Stämme erzielt worden, die nach Übertragung in antibioticafreie Nährsubstrate im Licht farblos bleiben (AARONSON und SCHER 1960). Bei allen anderen Protophyten stellt sich über kurz oder lang nach mehreren Kulturpassagen die normale Pigmentbildung wieder ein.

Die Entstehung farbloser Kolonien ist von der Empfindlichkeit der benutzten Arten bzw. der verschiedenen Stämme ein und derselben Art, der Antibioticakonzentration, der Einwirkungszeit sowie der Art der Vor- und Nachbehandlung abhängig. Es kann ganz allgemein keine vollständige Ausbleichung beobachtet werden, wenn nicht wenigstens einige Zellteilungen auftreten (PROVASOLI, HUTNER und PINTNER 1951). Dies steht in guter Übereinstimmung mit den Beobachtungen an höheren Pflanzen, daß bereits ergrünte Plastiden nach SM-Behandlung nicht mehr farblos werden. Bei sehr empfindlichen Arten kann die zu einem Wachstumsstillstand führende oder auch letal wirkende Konzentration der Antibiotica geringer sein als die einen Pigmentverlust bewirkende, so daß ein Bleichungseffekt ausbleibt. So verhalten sich bereits verschiedene Stämme von *Euglena gracilis* sehr unterschiedlich (JÍROVEC 1949, E. und O. PRINGSHEIM 1952, VÁVRA 1956).

Über die Wirkungsweise der Antibiotica auf die Chloroplasten ist man sich noch nicht im klaren. Eine kurze Übersicht über verschiedene Möglichkeiten bringen HUTNER und PROVASOLI (1951). Es kann hier nur auf einige Punkte eingegangen werden. Da SM Nucleinsäuren, isoliertes Chloroplastin und auch Chloroplasten aus wäßriger Lösung fällt (v. EULER, BRACCO und HELLER 1948, v. EULER und HELLER 1950), wird vermutet, daß es zu einer Inaktivierung von RNS und damit zu einer Blockierung der Proteinsynthese kommt. Die Bildung von Aminosäuren wird nicht beeinflußt. Es findet eine Anreicherung von freien Aminosäuren statt, die das Fünffache des normalen Wertes erreichen kann (z. B. DE DEKEN-GRENSON 1955). Hierbei sind aber die Ergebnisse von v. EULER und STEIN (1955) zu berücksichtigen, daß mit Aureomycin und einigen anderen Tetracyclinen Chlorophylldefekte auftreten, aber nicht mit Neomycin, obwohl Neomycin eine stark fällende Wirkung auf Nucleinsäuren hat und Aureomycin gar keine. Umgekehrt kann auch primär eine Blockierung der Proteinsynthese angenommen werden, die sich auf die NS-Synthese auswirkt (z. B. DOUDNEY 1960 für Chloramphenicol).

Die Antibiotica können auch direkt in die Synthese des Protochlorophylls im Dunkeln bzw. in die Bildung des Chlorophylls im Licht eingreifen (z. B. LEDOYEN 1957). Es fragt sich aber, ob hier eine Wirkung auf den rein chemischen Prozeß vorliegt, eventuell durch Fermentblockierungen, oder ob der Effekt über die Beeinflussung der Plastidenstruktur zustande kommt. Für den ersten Weg spricht einmal die Tatsache, daß die SM-Wirkung von einer Katalasehemmung begleitet ist, so daß es naheliegt, an Vorgänge zu denken, die mit der Porphyringruppe in Beziehung stehen (z. B. v. EULER 1950). Außerdem erfolgt eine Aufhebung des SM-Effektes auf die Chlorophyllbildung durch Mg^{++} (ROSEN und GAWLIK 1959), Mn^{++} und besonders durch Fe^{+++} (RUBIN und LADYGINA 1959). Mn^{++}-Zusatz

verhindert auch die Wachstumshemmung des SM auf *Avena*-Koleoptilenscheibchen, aber nicht die bakteriostatische Wirkung auf *Escherichia coli* (Rosen 1954).

Ein zunächst erhoffter Einfluß von SM auf die genetische Struktur scheint nicht vorzuliegen, worauf vor allem de Deken-Grenson (1955) und de Deken-Grenson und Godts (1960) hinweisen.

Relativ selten sind bisher die durch Antibiotica hervorgerufenen Strukturveränderungen an den Zellorganellen untersucht worden. Nach Provasoli, Hutner und Pintner (1951) tritt unter der SM-Einwirkung bei *Euglena gracilis* var. *bacillaris* eine Größenreduktion der Chloroplasten auf, die Pyrenoide verschwinden, während die Paramylumbildung ungehindert weitergeht. Schließlich ist eine Fragmentation der Chloroplasten zu beobachten. Auch *Chlamydomonas reinhardi* zeigt, obwohl SM kein permanentes Ausbleichen bedingt, eine Kontraktion der Chloroplasten und eine starke Reduktion des Pyrenoids. In diesem Zustand unterbleibt aber die Bildung von Stärke. Wolken (1956) gibt im Gegensatz zu den oben angeführten Befunden ein Schwellen der Chloroplasten von *Euglena* an. Ebenso beobachtet er eine Vergrößerung von Kern und Nucleolus. Von ihm stammen auch die ersten elektronenmikroskopischen Untersuchungen von *Euglena* nach Dunkelkultur und nach SM-Behandlung. In dunkel-adaptierten Zellen erscheint die Feinstruktur der Chloroplasten zerrissen oder kollabiert. Die Zerstörung der lamellaren Struktur geht parallel mit der Ausbleichung der Chloroplasten im Dunkeln. In den im Licht mit SM behandelten Zellen bleibt dagegen relativ viel Struktur in den Plastiden erhalten.

Die Chloroplasten der Gerste werden nach SM-Zugabe kleiner, vacuolisieren und verlieren in fixiertem Material ihre Färbbarkeit mit Hämatoxylin und Säurefuchsin. Die Chondriosomen sind resistenter als die Plastiden (Signol 1954). Nach Sosnová und Hrabětová (1958) bedingt D-Chloramphenicol bei *Triticum* eine charakteristische Vacuolisierung der Proplastiden. Auf spätere Stadien hat das Antibioticum keinen Einfluß mehr. Über elektronenmikroskopische Beobachtungen an Zellen von *Sinapis alba* berichtet Rossner (1960). Danach ist bei einer irreversiblen Schädigung durch SM unter anderem die weitaus größte Zahl der Plastiden granalos. Das „Primärgranum" wird abgebaut, es entstehen nur granafreie Trägerlamellen. Die Plastiden zeigen eine diffuse Rotfluorescenz. Die Chondriosomen lassen dagegen keine Anomalien erkennen. Die Golgi-Apparate werden durch Abblätterung ihrer Doppellamellen aufgelöst.

Bei *Micrasterias rotata* zeigen die Chloroplasten schon im Zusammenhang mit dem normalen Alterungsprozeß der Zellen eine große Variabilität ihrer Struktur (Drawert und Mix 1961 b). Im Anschluß an diese Befunde untersuchten wir den Einfluß von Antibiotica auf die Plastidenstruktur.

2. Material und Methode

Als Versuchsobjekt diente *Micrasterias rotata* (GREV.) RALFS, die wir seit 6 Jahren in Kultur haben. Die Anzucht erfolgte in Erdextraktlösung mit Mineralsalzen in Anlehnung an PRINGSHEIM (1954). Die Antibiotica wurden der Kulturflüssigkeit zugesetzt. Wir untersuchten die Wirkung von Streptomycin-Sulfat „Hoechst"[1] (SM) und Leukomycin (= Chloramphenicol) „Bayer"[1] (LM).

Die Verwendung antibiotischer Substanzen für Chloroplastenversuche ist nur dann sinnvoll, wenn das Teilungswachstum der Algenzelle weniger geschädigt wird als der Chromatophor. Zunächst war zu klären, ob die Anwesenheit von SM oder LM in der Kulturlösung überhaupt ein Wachstum der *Micrasterias*-Zellen zuläßt. In der kritischen Konzentration ergaben sich Unterschiede zwischen unseren Versuchen in Berlin und in Marburg. In Berlin erfolgte bei 10 mg/l SM noch ein Teilungswachstum, während dieses bei 30 mg/l SM nicht mehr stattfand und die Zellen schnell abstarben. Die Marburger Kulturen vermehrten sich dagegen teilweise noch bei 50 mg/l SM. Die Ansätze mit LM verhielten sich gerade umgekehrt. In Berlin kam es noch bei 50—70 mg/l LM zu einem normalen Teilungswachstum, das etwa bei 100 mg/l LM eingestellt wurde. Die Marburger Kulturen starben zum Teil schon bei 30—40 mg/l LM ab, in anderen Fällen wurden aber auch die Berliner Konzentrationen vertragen. Für LM sind ganz allgemein die Grenzen nicht so scharf wie für SM. Worauf die Unterschiede in Berlin und Marburg zurückzuführen sind, haben wir noch nicht geklärt. Das abweichende Verhalten wurde gleich nach unserer Umsiedlung beobachtet, wo wir zunächst noch Berliner Erdextrakt zum Ansetzen der Kulturen benutzten.

Die Nährlösungen wurden einschließlich der zugegebenen Antibiotica im Dampftopf sterilisiert. Die Grenzkonzentration des SM wird dadurch stark beeinflußt. Während bei einer Mitsterilisierung des SM bei 20 mg/l SM noch ein fast normales Teilungswachstum stattfand, war dies bereits bei 5 mg/l fast ganz und bei 10 mg/l völlig eingestellt, wenn das SM erst nach der Sterilisierung der Kulturflüssigkeit zugegeben wurde. Diese Befunde stimmen mit der Angabe von SATO (1959) überein, daß die SM-Wirkung durch Erhitzen der Lösung auf 120° C im Autoklaven aufgehoben wird. Bei LM ergaben sich keine Unterschiede in der Wirkung. Parallel zu allen Versuchen liefen Kontrollreihen ohne Zusatz von Antibiotica.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden die Zellen mit OsO_4 fixiert, in Methacrylat eingebettet und mit den Ultramikrotomen nach SJÖSTRAND oder nach VOGELL geschnitten. Über den Einfluß verschiedener Fixierungs- und Einbettungsmittel auf die zu beobachtenden Plastidenstrukturen vgl. man DRAWERT und MIX (1961 b). Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Elmiskop II gemacht.

3. Licht- und fluorescenzmikroskopische Beobachtungen

Micrasterias rotata gehört offenbar zu der Gruppe von Protophyten, bei denen die toxische Wirkung von SM und LM bei einer geringeren Konzentration liegt als die Wirkung auf die Chlorophyllsynthese. Wir konnten nie ein Ausbleichen der Kulturen beobachten. Zunächst unterscheiden sich die Chloroplasten in keiner Weise von denen aus Antibiotica-freien Kulturen. Veränderungen am Chloroplasten treten meist erst nach einiger Zeit auf, bei SM jedoch früher als bei LM. Nach Behandlung mit LM ist teilweise eine Anhäufung chloroplastendefekter

[1] Für die freundliche Überlassung der Präparate danken wir den beiden Firmen.

Zellen zu finden. Ferner scheint für LM die Ausscheidung stark lichtbrechender Tröpfchen charakteristisch zu sein (Abb. 1 und 9). Ob es

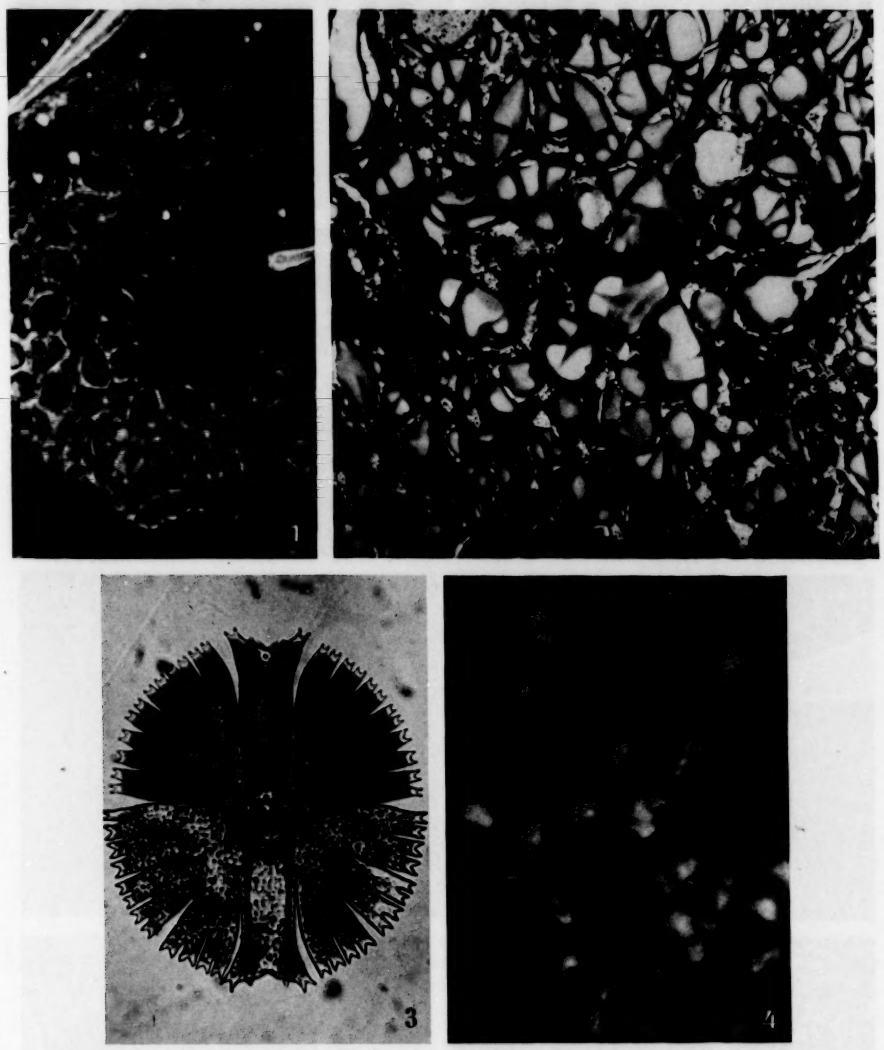


Abb. 1. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit LM. Chloroplast in Aufsicht mit überreicher Stärkeanhäufung und stark lichtbrechenden Tröpfchen. In der unteren Hälfte ein von Stärkekörnern verdecktes Pyrenoid. Vergr.: 540, auf 1200 nachvergr.

Abb. 2. Wie Abb. 1, aber elektronenmikroskopische Aufnahme von einem Längsschnitt (= Schnitt parallel zur Oberfläche) durch den Chloroplasten. In der unteren Hälfte ein von Stärkekörnern umgebenes Pyrenoid. Vergr.: 1500, auf 2250 nachvergr.

Abb. 3. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Ältere Zellhälfte mit sehr grober, jüngere mit viel feinerer Granastruktur. Vergr.: 90, auf 225 nachvergr.

Abb. 4. *Micrasterias rotata* aus alter Kultur. Chloroplast mit grober Granastruktur und kleinen Granula in mosaikartiger Anordnung. Aufnahme mit Phasenkontrast. Vergr.: 540, auf 2700 nachvergr.

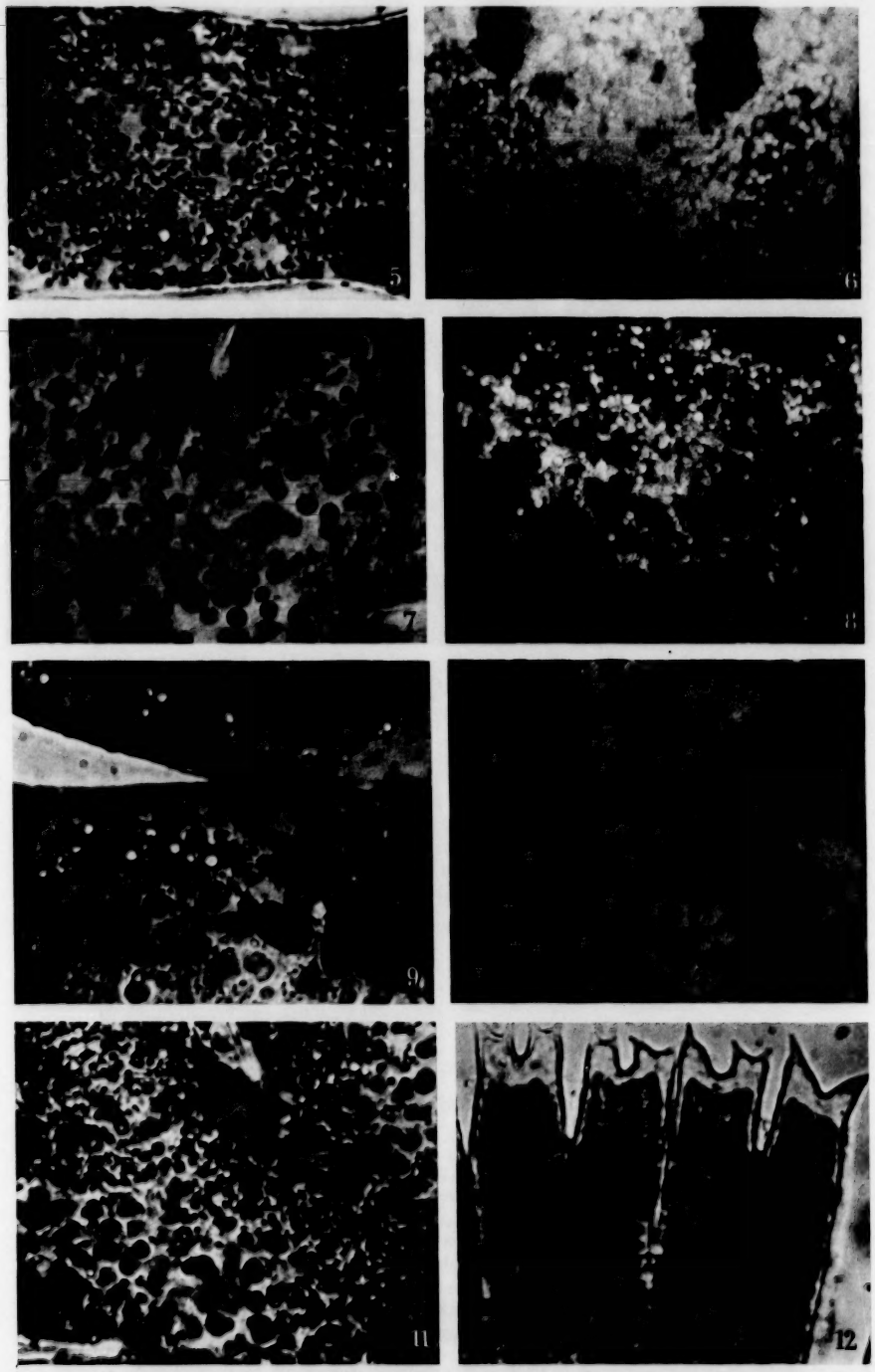


Abb. 5—12. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

sich dabei um eine Lipoidabgabe des Chloroplasten handelt, ist noch nicht untersucht. Im Gegensatz zu SM-Kulturen fällt nach LM-Behandlung die überreiche Stärkeansammlung in den Chloroplasten auf (Abb. 1 und 2). In stärker geschädigten, SM-behandelten Zellen verschwindet dagegen nicht nur jegliche Stärke, auch die Pyrenoide sind nicht mehr oder nur noch rudimentär vorhanden.

Am auffälligsten ist die Veränderung der Struktur in den Chloroplasten. An normalen Kulturen konnte bereits gezeigt werden, daß mit zunehmendem Alter eine Vergröberung der Grana einsetzt (Drawert und Mix 1961b, S. 653, Abb. 8—13). Unter der Einwirkung von SM und LM tritt diese Tendenz in wesentlich stärkerem Maße hervor, wie es die Abb. 5—10 deutlich zeigen. Ohne Kenntnis der elektronenmikroskopisch sichtbaren Struktur (s. folgendes Kapitel) würde man von Entmischungstropfen sprechen (vgl. Butterfasz 1957 für *Spirogyra*). In Abb. 5 ist eine klare Trennung in granafreie und granahaltige Felder zu erkennen. Noch deutlicher wird diese „Entmischung" im Fluorescenzmikroskop sichtbar (Abb. 6).

Nach einer mechanischen Beschädigung der Zelle fließt der Chloroplasteninhalt aus und zeigt im Blaulicht die fluorescierenden Grana (Abb. 8). Bei der Zerstörung des Chloroplasten werden die Grana selbst nicht sichtbar verändert. Die rote Chlorophyllfluorescenz in einer lebenden Zelle wird unter der Einwirkung des Blaulichtes schwächer und schlägt schließlich nach Gelb um. Dagegen ist die Rotfluorescenz ausgeströmter Plastidenteilchen meist wesentlich intensiver als in der lebenden Zelle und nimmt auch durch längere Blaulichteinstrahlung weder ab, noch tritt eine Farbtonänderung auf. Dies könnte auf einem Sauerstoffmangel in der ausgetretenen Plastidenmasse beruhen, da die Photosynthese gegenüber der normalen, lebenden Zelle wohl stark herabgesetzt sein dürfte.

Nach längerer Antibiotica-Einwirkung wird die „Entmischung" des Chloroplasten stärker, und die Grana werden immer größer (Abb. 7). Kurz

Abb. 5. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit LM. Chloroplast mit „Entmischungstropfen" (= Grana). Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

Abb. 6. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Chloroplast mit rot fluorescierenden „Entmischungstropfen". Aufnahme im Fluorescenzmikroskop. Vergr.: 320, auf 640 nachvergr.

Abb. 7. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Chloroplast mit großen „Entmischungstropfen". Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

Abb. 8. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Mechanisch zerstörter Chloroplast mit den ausgetretenen rot fluorescierenden „Entmischungstropfen". Aufnahme im Fluorescenzmikroskop. Vergr.: 320, auf 640 nachvergr.

Abb. 9. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit LM, kurz vor dem Absterben. Chloroplast mit sehr großen, chlorophyllführenden „Entmischungstropfen" und kleineren stärker lichtbrechenden Tröpfchen (vgl. Abb. 1). Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

Abb. 10. Wie Abb. 9, aber Aufnahme im Fluorescenzmikroskop. Vergr.: 320, auf 640 nachvergr.

Abb. 11. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit LM. Die großen „Entmischungstropfen" im Chloroplasten lassen bei Profilstellung eine Scheibchennatur erkennen. Zum Teil sind die Scheibchen geldrollenartig hintereinander aufgereiht. Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

Abb. 12. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Die chlorophyllführenden Scheibchen bilden an der Peripherie des Chloroplasten eine palisadenartige Einfassung. Vergr.: 540, auf 1080 nachvergr.

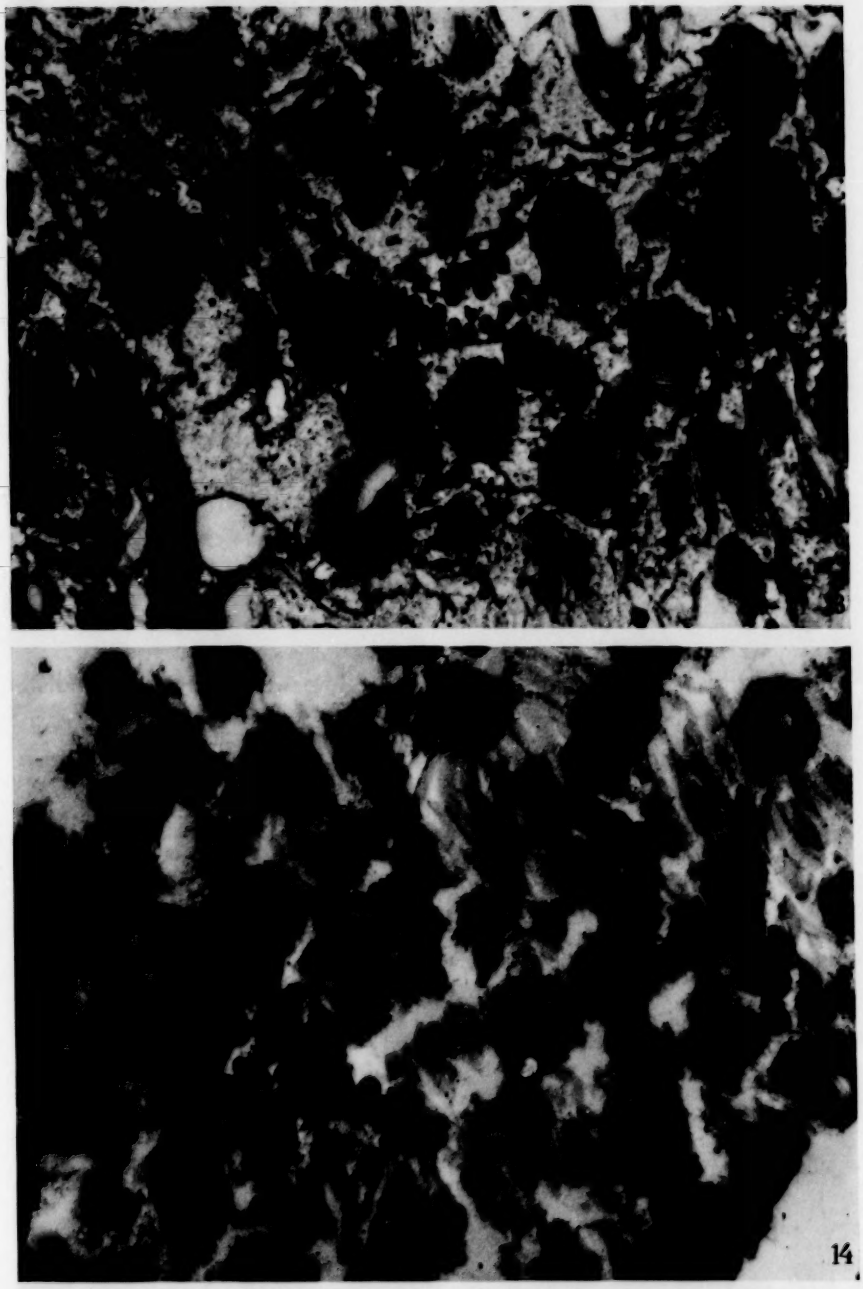


Abb. 13. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Längsschnitt durch den Chloroplasten. Die Grana (= „Entmischungstropfen") sind mehr oder weniger schräg getroffen (über die Orientierungsschwierigkeiten durch die Faltelung des Chromatophors vgl. Drawert und Mix 1961b). Zum Teil werden dicht zusammenliegende Grana durch gemeinsame Lamellen verbunden. Im Stroma, das nur noch Lamellenfragmente enthält, sind „osmiophile Granula" sichtbar. Vergr.: 7500, auf 11250 nachvergr.

Abb. 14. (Legende auf gegenüberliegender Seite)

vor dem Absterben enthält der Chloroplast schließlich große, in Aufsicht tropfenartige, scharf umrissene Gebilde (Abb. 9), in denen das Chlorophyll lokalisiert ist, wie es die Fluorescenzaufnahme belegt (Abb. 10).

Auch bei den großen „Entmischungstropfen" handelt es sich um scheibchenförmige Gebilde. Häufig sind sie in Profilstellung zu sehen und können — wie zum Teil in Abb. 11 — hintereinander aufgereiht sein. Sie erinnern dann an die aus elektronenmikroskopischen Bildern bekannten „Geldrollen". In der vorhergehenden Mitteilung wurde schon darauf hingewiesen, daß es in älteren Zellen zu einer eigenartigen Anordnung der Grana an der Peripherie des Chloroplasten kommen kann (DRAWERT und MIX 1961b, S. 653, Abb. 11 und 12). Diese Erscheinung ist in den durch Antibiotica geschädigten Zellen teilweise in noch viel auffälligerer Weise zu finden. Fast der gesamte Außenrand des Chloroplasten kann mit solchen „Geldrollen" besetzt sein, so daß eine palisadenartige Einfassung entsteht (Abb. 12).

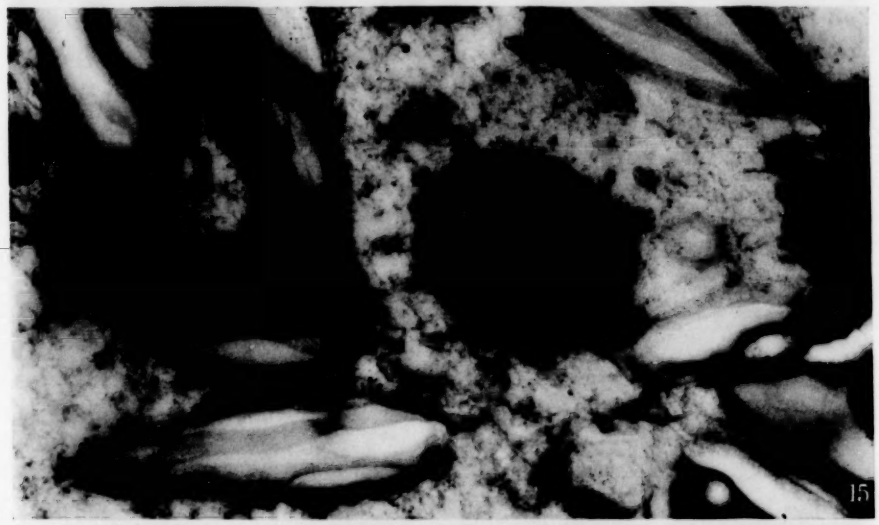
Die Beschaffenheit der Chloroplasten der einzelnen Zellen im gleichen Kulturkolben kann sehr verschieden sein. Darüber hinaus treten auch Unterschiede in ein und derselben Zelle auf. Wie aus Abb. 3 hervorgeht, zeigt in SM-Kulturen der Chloroplast häufig in der älteren Zellhälfte eine sehr grobe, in der jüngeren dagegen eine viel feinere Granaausbildung.

Neben der eigentlichen Granastruktur fallen bei eingehender Betrachtung des Chloroplasten kleine Granula auf, die meist zu mehreren in mosaikartigen Haufen zusammenliegen (Abb. 4). In jüngeren Kulturen sind hin und wieder kleinere Ansammlungen zu sehen, in älteren und nach Antibioticabehandlung können sie sich über größere Flächen ausbreiten. Es gibt keine Anhaltspunkte dafür, daß sie an bestimmten Stellen bevorzugt auftreten. Sie zeigen eine starke Lichtbrechung, keinerlei Fluorescenz und sind meistens nur bei stärkster Vergrößerung im Phasenkontrast zu erkennen.

4. Elektronenmikroskopische Beobachtungen

Elektronenmikroskopisch kann der Beweis erbracht werden, *daß es sich selbst bei den gröbsten „Entmischungen" im Chloroplasten nicht um einfache „Entmischungstropfen" handelt, sondern daß Gebilde mit ausgeprägter Lamellenstruktur vorliegen, die als stark vergrößerte Grana anzusehen sind* (Abb. 13). Wie bei den Zellen aus alten Kulturen (DRAWERT und MIX 1961 b) werden die Stromalamellen aufgelöst oder zerrissen, so daß die Grana in einem mehr oder weniger granulierten Stroma mit Lamellenfragmenten liegen. Die Lamellenpakete werden zunächst durch Aufblättern einzelner Lamellen, wahrscheinlich durch Quellungsvorgänge, aufgelockert. Durch das Auseinanderrücken erscheinen die

Abb. 14. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit LM. Längsschnitt durch den Chloroplasten. Grana- und noch vorhandene Stromalamellen (rechts oben) erscheinen bandförmig. Im Stroma befinden sich viele „osmiophile Granula".
Vergr.: 7500, auf 11250 nachvergr.



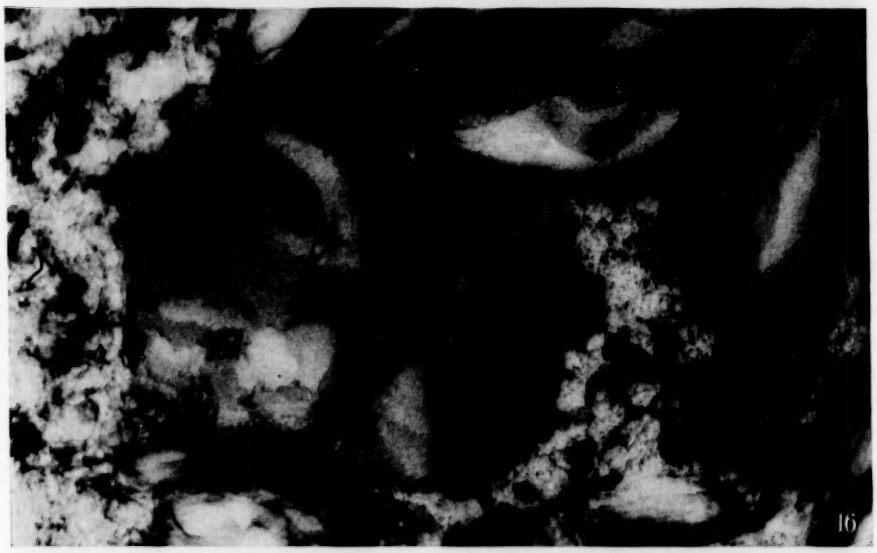


Abb. 15—17. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

Stromalamellen — soweit sie noch vorhanden sind — in Schrägschnitten als Bänder (Abb. 14, rechts oben). Bei den sehr großen Grana, wie sie lichtmikroskopisch in Abb. 7 und 9 dargestellt sind, tritt in Schrägschnitten im Elektronenmikroskop die Lamellenstruktur klar hervor (Abb. 15). Wird parallel zur Granaoberfläche geschnitten, so erhält man regelrechte Abbruchbilder von den Lamellenstapeln (Abb. 16).

Bereits im lichtmikroskopischen Bereich hat man manchmal den Eindruck einer „Verschmelzung" einzelner Grana. In der elektronenmikroskopischen Aufnahme dürften diesen Zuständen Bilder entsprechen, wie sie in Abb. 13 zu erkennen sind. An verschiedenen Stellen sieht man, daß mehrere Grana dicht beieinanderliegen und durch gemeinsame Lamellen miteinander verbunden sind.

Die Zerstörung der Struktur des Stroma und das Erhaltenbleiben der Grana nach Antibioticabehandlung geht auch aus Querschnitten durch den Chloroplasten hervor (Abb. 17). In Abb. 18 ist eine „Verquellung" der Grana und ein teilweises Aufblättern der Doppellamellen zu sehen.

Die zum Teil geldrollenartige Anordnung der großen Grana ist in Abb. 19 und 21 gut zu erkennen. Die lockere Anordnung in Abb. 21 entspricht etwa der lichtmikroskopischen Aufnahme in Abb. 11. Die in Abb. 12 dargestellte Aufreihung der Grana an der Peripherie des Chloroplasten wird elektronenmikroskopisch in Abb. 22 wiedergegeben. Wie aus der stärkeren Vergrößerung in Abb. 23 hervorgeht, sind die noch im Zusammenhang mit der Plastidenmembran verbliebenen Lamellensysteme des Chloroplasten senkrecht zur Membran angeordnet. Größere Zwischenräume entstehen durch sich aufblähende Doppellamellen, die in relativ regelmäßigen Abständen voneinander zu finden sind. Die danebenliegenden Doppellamellen erscheinen dagegen völlig zusammengedrückt.

Während die Strukturen des Stroma und der Grana weitgehend verändert werden, zeigt die doppelt konturierte Chloroplastenmembran keine Zerfalls- oder Deformationserscheinungen. An der Innenlamelle der Plastidenmembran sind sackartige Einstülpungen in das Plastideninnere zu beobachten (Abb. 19 und 20), die möglicherweise zu neuen Doppellamellen führen können.

Abb. 15. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Längsschnitt durch den Chloroplasten. Große Grana mit teilweise auseinandergewichenen bzw. im „Abbruch" erscheinenden Lamellen. Vergr.: 15000, auf 22500 nachvergr.

Abb. 16. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Längsschnitt durch den Chloroplasten. Die beiden großen Grana sind fast parallel zu ihrer Oberfläche getroffen und zeigen Abbruchbilder der Lamellen. Vergr.: 7500, auf 22500 nachvergr.

Abb. 17. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Querschnitt durch den Chloroplasten mit quer getroffenen Grana. Die Struktur des Stroma ist weitgehend zerstört. Vergr.: 7500, auf 15000 nachvergr.

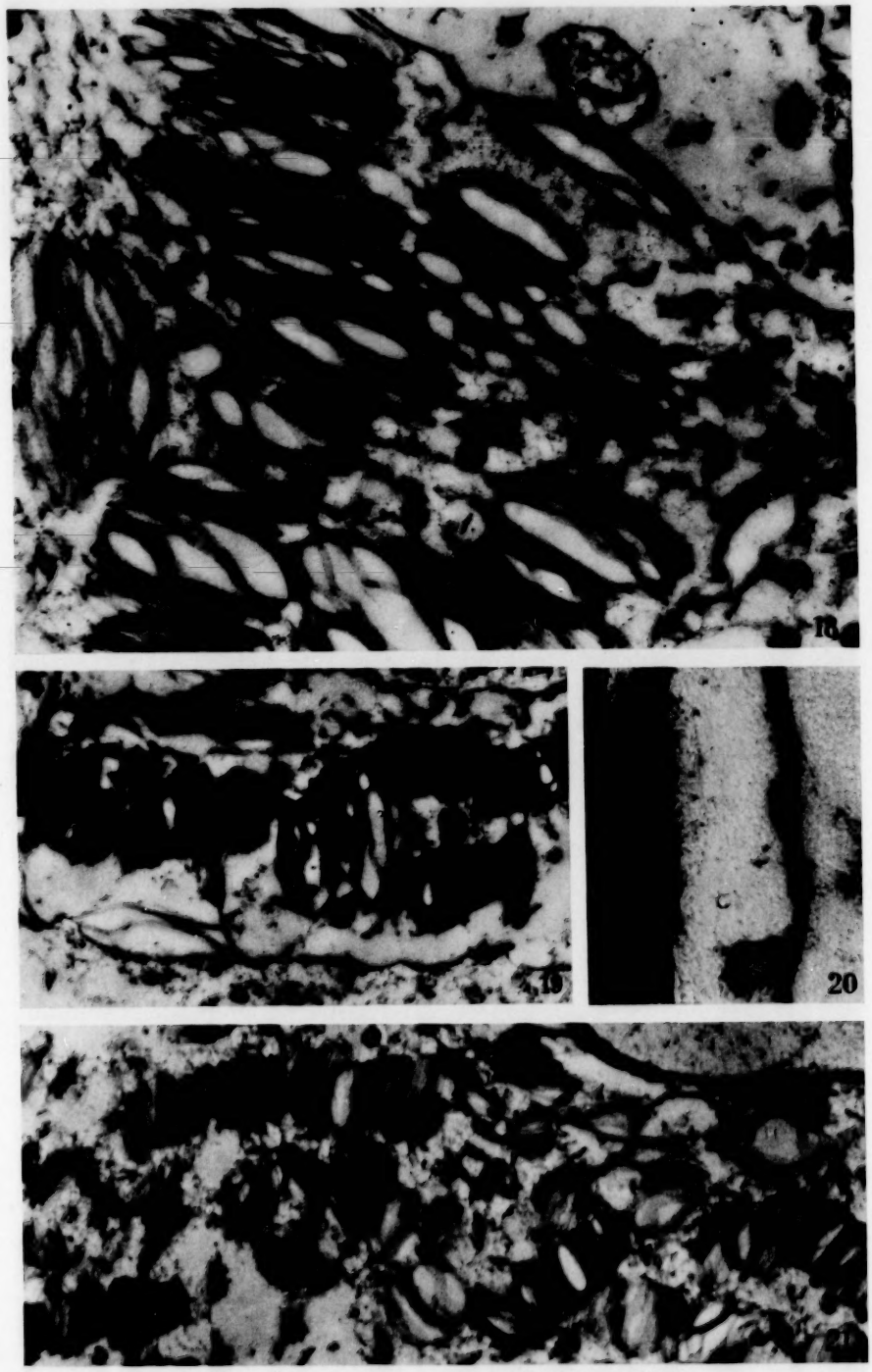


Abb. 18—21. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

Die als „osmiophile Granula" bezeichneten Gebilde des Chloroplasten (Abb. 13 und 14) liegen nur im Stroma. Sie treten niemals in einem Granum auf. Im elektronenmikroskopischen Bild sind sie nicht immer einheitlich geschwärzt, sondern zeigen oft helle, unregelmäßig angeordnete Aussparungen (Abb. 18), die bis jetzt nicht zu deuten sind. Wir vermuten, daß die im Lichtmikroskop gerade noch erkennbaren kleinen Granula (Abb. 4) mit den „osmiophilen Granula" identisch sind. Dafür spricht ihre Größenordnung, ihre stellenweise mosaikartige Anordnung und ihr gehäuftes Auftreten in alternden Kulturen sowohl im licht- wie im elektronenmikroskopischen Bild.

5. Besprechung der Ergebnisse

Aus den mitgeteilten Befunden kann man schließen, daß es sich bei der Einwirkung von SM und LM auf den Chloroplasten von *Micrasterias* nicht um eine spezifische Wirkung der benutzten Antibiotica handelt, sondern nur um eine Verstärkung von Prozessen, die auch bei der normalen Alterung, also allgemein bei ungünstigen Lebensbedingungen, ablaufen. Da ein Ausbleichen der Chromatophoren ausbleibt, kann man die Ergebnisse auch nicht ohne weiteres mit den Befunden anderer Autoren vergleichen, die mit farblosen Plastiden gearbeitet haben. So besteht ein scheinbarer Widerspruch zu den Angaben von Rossner (1960). Danach sollen bei *Sinapis alba* die meisten Plastiden nach SM-Behandlung granalos sein, während in unseren Versuchen bei *Micrasterias* die Grana nicht nur erhalten bleiben, sondern noch größer werden. Es kommt hinzu, daß bei den Chloroplasten vieler Algen ein ganz anderer Vermehrungsmodus vorliegt als bei den Chlorophyllkörnern höherer Pflanzen, worauf bereits de Deken-Grenson (1955) hinweist. So vermehren sich die Chloroplasten von *Micrasterias* durch direkte Teilung (vgl. Drawert und Mix 1961 b) und gehen nicht aus Proplastiden hervor.

Die Erhaltung der Grana bei den grün bleibenden Chromatophoren von *Micrasterias* unter Einwirkung der Antibiotica ist von besonderem Interesse für die Frage des Zusammenhanges zwischen Struktur und Chlorophyll. Bedingt das Chlorophyll eine bestimmte Struktur oder ist die Synthese des Chlorophylls nur möglich beim Vorliegen dieser

Abb. 18. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Querschnitt durch den Chloroplasten. Die lamellare Struktur des Stroma ist weitgehend zerstört. Die Grana sind „verquollen" und lassen häufig eine Aufblätterung der Doppellamellen erkennen. Vergr. 15000, auf 22500 nachvergr.

Abb. 19. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Querschnitt durch den Chloroplasten eines Seitenlappens mit geldrollenartiger Anordnung der Grana in dichter Packung. Links unten eine schlaufenartige Einstülpung der Innenlamelle der Plastidenmembran. Vergr.: 7500, auf 15000 nachvergr.

Abb. 20. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Querschnitt durch den Chloroplasten. Die doppeltkonturierte Plastidenmembran bleibt erhalten. Die Innenlamelle der Membran läßt eine Einstülpung in das Plastideninnere erkennen. Vergr.: 15000, auf 60000 nachvergr.

Abb. 21. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Längsschnitt durch den Chloroplasten mit geldrollenartiger Anordnung der Grana in lockerer Packung. (Grana quer getroffen.) Vergr.: 7500, auf 11250 nachvergr.

bestimmten Struktur ? Damit kommen wir weiter zu der Frage nach der Wirkungsweise von SM und LM, auf die wir zuerst kurz eingehen wollen.

Abb. 22. *Micrasterias rotata* nach Behandlung mit SM. Längsschnitt durch den Chloroplasten mit Granaaufreihung an der Peripherie, so daß eine palisadenartige Einfassung entsteht (vgl. Abb. 12). Vergr.: 1500, auf 3000 nachvergr.

Abb. 23. Wie Abb. 22, nur stärker vergrößert. Die Lamellen stehen noch in Verbindung mit der Plastidenmembran. In relativ regelmäßigen Abständen befinden sich durch Aufblähen einzelner Doppellamellen entstandene Zwischenräume. Vergr.: 15000, auf 22500 nachvergr.

Als spezifisch möchten wir eine Blockierung der Synthese von Protochlorophyll oder dessen Umwandlung in Chlorophyll annehmen. Bei *Micrasterias* kommt es nicht zu diesem Effekt, weil die dafür notwendige Menge über der letal wirkenden Konzentration liegt. Die Zerstörung der Lamellenstruktur des Stroma und das teilweise Aufblähen der Granalamellen sind — wie bereits erwähnt — Erscheinungen, die wahrscheinlich ganz allgemein bei Verschlechterung der Lebensbedingungen einsetzen. So schreibt v. WETTSTEIN (1957) im Anschluß an Untersuchungen von chlorophyll-letalen Oenotheren (STUBBE und v. WETTSTEIN 1956) und Gersten-Mutanten (S. 471): „Der physiologische Formwechsel des ausdifferenzierten Chloroplasten drückt sich vorzugsweise im Auf- und Abbau sowie im Wechsel der Größe der Granadifferenzierung aus. So ist z. B. die Granadifferenzierung in stark belichteten Pflanzen ausgeprägter als in solchen, die im schwachen Licht standen. Hingegen ist die Granastruktur resistenter gegen natürliche oder künstliche Quellung als die Stromalamellen und die Grundsubstanz des Chloroplasten. Bei Quellung oder starker Wasseraufnahme werden offenbar zuerst die Chloroplastenschichten, darauf die Stromalamellen und schließlich die Stromafeinschichten auseinandergetrieben, was zu ihrem Zerreißen führen kann. Erst zuletzt werden die Grana angegriffen."

Das Aufblähen der Granalamellen nach Antibioticaeinwirkung kann sehr wahrscheinlich auf Quellungserscheinungen zurückgeführt werden, da auch andere Veränderungen in der Zelle in dieser Richtung zu deuten sind. So schwellen die Chondriosomen sehr stark an, und die Teilnucleolen runden sich ab (DRAWERT und MIX 1961a). Nach WOLKEN (1956) läuft das Anschwellen der Chloroplasten von *Euglena* unter Einwirkung von SM parallel mit einer Vergrößerung von Kern und Nucleolus. Über eine im Lichtmikroskop sichtbare Vacuolisierung von Plastiden höherer Pflanzen unter Einwirkung von SM bzw. Chloramphenicol (LM) berichten SIGNOL (1954) und SOSNOVÁ und HRABĚTOVÁ (1958).

Zu der Frage nach dem Zusammenhang zwischen Struktur und Chlorophyll möchten wir mit SAGER und PALADE (1954), LEFORT (1959) und RÖBBELEN (1959) die Vermutung teilen, daß das Chlorophyll die spezifischen Strukturen der Chloroplasten bedingt. Bei *Micrasterias* bleibt das Chlorophyll erhalten, folglich auch die lamellaren Strukturen der Grana. Sehr wahrscheinlich kommt es sogar unter Umständen zu dem Aufbau eines ganz neuen Lamellensystems, wenn wir an die peripheren palisadenartigen Bildungen der Chloroplasten denken (Abb. 12, 22 und 23). Wird die Chlorophyllsynthese durch SM unterbunden, verschwinden auch die Grana (ROSSNER 1960) ebenso wie bei der gelben Mutante von *Chlamydomonas reinhardi* nur im Licht Chlorophyll und Chloroplastenlamellen auftreten, im Dunkeln aber beides nicht ausgebildet wird. Der normale Stamm tut beides sowohl im Licht als auch im Dunkeln (SAGER und PALADE 1954). Leider liefert das Elektronen-

mikroskop nur statische Bilder, und auch die lichtmikroskopischen Untersuchungen reichen noch nicht für eine plausible Vorstellung von der Dynamik der sich hier abspielenden morphologischen Vorgänge, z. B. der Entstehung der palisadenartigen Randzone aus.

Die beobachtete Anhäufung von freien Aminosäuren in den blassen Chloroplasten (DE DEKEN-GRENSON 1955) braucht mit der vorgetragenen Ansicht nicht im Widerspruch zu stehen, da es sich hierbei wahrscheinlich um Bausteine für die Strukturproteine handelt, deren Synthese aber an die Gegenwart von Chlorophyll gebunden ist. Zum Teil können sie für andere Synthesen, z.B. von Anthocyan, benutzt werden (KANDELER 1960). Es würde dann bei der Unterbrechung der Proteinsynthese nur eine indirekte Wirkung des SM über die direkte Blockierung der Chlorophyllsynthese vorliegen. Wieweit die Einwände von v. WETTSTEIN (1960) gegen diese Auffassung auf Grund seiner Befunde an *Xantha*-Mutanten der Gerste zu Recht bestehen, bedarf noch einer eingehenden Untersuchung.

Die „osmiophilen Granula", wie man sie immer wieder in Chloroplasten — so auch bei *Micrasterias* — antrifft, sind unserer Meinung nach reelle Bestandteile der Chromatophoren und keine Fixierungsartefakte. In vielen Fällen wird es sich auch nicht um Degenerationserscheinungen handeln. Doch soll diese Frage hier nicht weiter diskutiert werden. Wir möchten nur auf einige Punkte hinweisen. Allem Anschein nach sind die im Lichtmikroskop gerade noch zu erkennenden kleinen Granula (Abb. 4) und die „osmiophilen Granula" identische Gebilde. Ihre Zahl ist abhängig vom physiologischen Zustand der Zelle. Unter schlechten Lebensbedingungen scheint sie zuzunehmen. Vielleicht spielen dabei auch die Lichtverhältnisse eine Rolle. Auffallend ist die Ähnlichkeit mit den Carotinoidgranula im Augenfleck mancher Protophyten[1]. Wir vermuten, daß die „osmiophilen Granula" in vivo ebenfalls Carotinoide enthalten (vgl. auch v. WETTSTEIN 1957 und RÖBBELEN 1959). Wenn man einen Zusammenhang mit den Lichtverhältnissen annimmt, könnten sie für die Photosynthese von Bedeutung sein. Unter bestimmten Bedingungen wird ein Teil der Carotinoide aus dem photosynthetisch wirksamen Pigmentkomplex ausgeschieden, in den lipoidhaltigen „osmiophilen Granula" lokalisiert und damit bei der Lichtabsorption und Energieübertragung für den Photosyntheseprozeß ausgeschaltet. Es könnte eine Art chromatische Adaptation vorliegen.

Ferner wäre auch an einen Strahlenschutz für das Chlorophyll zu denken. In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von GEROLA, DASSÙ und CRISTOFORI (1960) an *Selaginella helvetica* von Interesse. Bei dem Übergang von Chloro- in Chromochloroplasten entstehen zwischen den Lamellen und unter der Plastidenmembran viele Carotingranula. Zum Unterschied von der Bildung echter Chromoplasten (STEFFEN und WALTER 1958, FREY-WYSSLING und KREUTZER 1958a, b,

[1] Auf die sich damit befassende Literatur soll hier nicht eingegangen werden. Wir wollen nur auf eine Arbeit von FREY-WYSSLING und MÜHLETHALER (1960) verweisen. Mit der dort vertretenen Ansicht, daß der „Augenfleck" von *Euglena* mit einem „Golgi-Körper" identisch sein soll, können wir uns nicht befreunden. Die Autoren ziehen ihre Schlußfolgerungen aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen nach $KMnO_4$-Fixierung. Bei dieser Fixierung werden aber die Carotinoidgranula nicht abgebildet, so daß sie den Autoren entgangen sein dürften.

LANCE-NOUGARÈDE 1960) bleibt hier aber die lamelläre Struktur der Plastiden erhalten. Die Autoren weisen auch darauf hin, daß die Plastidenmetamorphose bei *Selaginella* reversibel sein soll. Zur Klärung dieses Fragenkomplexes würde es sich lohnen, elektronenmikroskopische Untersuchungen an grünen Algen durchzuführen, die unter bestimmten Bedingungen Verfärbungen zeigen.

Wenn sich die Grana in den vorliegenden Untersuchungen auch als sehr resistente Gebilde erwiesen haben, so müssen wir doch auf Grund ihrer sonst vorhandenen Variabilität und vor allem im Anschluß an unsere vorhergehende Mitteilung (DRAWERT und MIX 1961 b) der Auffassung von MENKE (1959) zustimmen, daß die Grana „eher als reversibel veränderliche, von den äußeren und inneren Bedingungen abhängige Differenzierungen der Schichten denn als konstante Strukturelemente aufzufassen" sind.

Über den Einfluß von SM und LM auf die Struktur der Pyrenoide soll im Zusammenhang mit ihrer normalen Form in einer folgenden Mitteilung berichtet werden.

Zusammenfassung

Unter dem Einfluß von Streptomycin und Leukomycin tritt bei *Micrasterias rotata* kein Ausbleichen der Chloroplasten auf. Die toxisch wirkende Konzentration scheint bei dieser Desmidiacee bereits unter der Antibioticamenge zu liegen, die für einen Bleichungseffekt notwendig ist.

In den Grenzkonzentrationen ergeben sich Schwankungen, die verschiedene Ursachen haben können. Eine Sterilisierung im Dampftopf setzt die SM-Wirkung herab. LM wird nicht beeinflußt.

In den Chloroplasten bilden sich chlorophyllführende „Entmischungstropfen", die eine ansehnliche Größe erreichen können. Aus verschiedenen Aufnahmen geht hervor, daß es sich dabei nicht um globuläre, sondern um scheibenartige Gebilde handelt. An der Peripherie des Chloroplasten kann es zu einer Häufung hintereinander aufgereihter Scheibchen kommen, die einen palisadenartigen Saum bilden.

Elektronenmikroskopisch zeigen die „Entmischungstropfen" eine lamelläre Struktur, so daß man sie als stark vergrößerte Grana ansehen muß. Sie liegen in einem Stroma, dessen Lamellen weitgehend zerstört sind.

Bei diesem Prozeß handelt es sich wohl nicht um eine spezifische Wirkung der Antibiotica, sondern um besonders auffällige Strukturänderungen, wie sie in abgeschwächter Form allgemein bei Verschlechterung der Lebensbedingungen auftreten.

Der bei anderen Organismen zu beobachtende Bleichungseffekt von SM und LM wird diskutiert und auf eine Blockierung der Chlorophyllsynthese zurückgeführt.

Fräulein DÖRTHE ECKHARDT danken wir für ihre unermüdliche Mitarbeit, Herrn Dr. WOLRAD VOGELL für manchen technischen Rat und seine stete Hilfsbereitschaft, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die uns gewährten Mittel.

Literatur

AARONSON, S., and S. SCHER: Effect of aminotriazole and streptomycin on multiplication and pigment production of photosynthetic microorganisms. J. Protozool. **7**, 156—158 (1960).

BOGORAD, L.: Effects of streptomycin on chlorophyll formation in dark-grown seedlings. Amer. J. Bot. **37**, 676 (1950).

BOUILLENNE-WALRAND, M.: Influence de la streptomycine sur le complexe pigmentaire d'une algue bleue, *Phormidium uncinatum* GOM. Bull. Soc. roy. Sci. Liège **28**, 241—245 (1959).

BRIAN, P. W.: Effects of antibiotics in plants. Ann. Rev. Plant. Physiol. 8, 413—426 (1957).

BUTTERFASZ, TH.: Über Grana, Karyoide und Pyrenoide von *Spirogyra*. Protoplasma **48**, 368—381 (1957).

DEKEN-GRENSON, M. DE: Action de la streptomycine sur la formation des chloroplastes. Biochim. biophys. Acta **17**, 35—47 (1955).

— The mass induction of white strains in *Euglena* as influenced by the physiological conditions. Exp. Cell. Res. **18**, 185—187 (1959).

—, u. A. GODTS: Descendance of *Euglena* cells isolated after various bleaching treatments. Exp. Cell. Res. **19**, 376—382 (1960).

DOUDNEY, C. O.: Inhibition of nucleic acid synthesis by chloramphenicol in synchronized cultures of *Escherichia coli*. J. Bact. **79**, 122—124 (1960).

DRAWERT, H., u. M. MIX: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. III. Mitt. Der Nucleolus im Interphasekern von *Micrasterias rotata*. Flora (Jena) **150**, 185—190 (1961a).

— — V. Mitt. Über die Variabilität der Chloroplastenstruktur bei *Micrasterias rotata*. Planta (Berl.) **56**, 648—665 (1961b).

DUBÉ, J. F.: Observations on an chlorophyll-deficient strain of *Chlorella vulgaris* obtained after treatment with streptomycin. Science **116**, 278—279 (1952).

EULER, H. v.: Einfluß von Streptomycin auf Samen normaler und chlorophylldefekter Gerste. Z. Naturforsch. **5b**, 448 (1950).

— M. BRACCO et L. HELLER: Les actions de la streptomycine sur les graines en germination des plantes vertes et sur les polynucléotides. C. R. Acad. Sci. (Paris) **227**, 16—18 (1948).

—, u. L. HELLER: Biochemische Wirkungen des Streptomycins und des Streptidins. Ark. Kemi **1**, 293—298 (1950).

—, u. M. L. STEIN: Einfluß von Streptomycin und von Tetracyclinen auf die Entwicklung keimender Samen. Experientia (Basel) **11**, 108—110 (1955).

FREY-WYSSLING, A., u. E. KREUTZER: Die submikroskopische Entwicklung der Chromoplasten in den Blüten von *Ranunculus repens* L. Planta (Berl.) **51**, 104—114 (1958).

— — The submicroscopic development of chromoplasts in the fruit of *Capsicum annuum* L. J. Ultrastruct. Res. **1**, 397—411 (1958).

—, u. K. MÜHLETHALER: Über den Feinbau der *Euglena*-Zelle. Schweiz. Z. Hydrologie **22**, 122—130 (1960).

GEROLA, F. M., G. DASSÙ e F. CRISTOFORI: Ricerche sulla infrastruttura e sull'evoluzione dei cromocloroplasti di *Selaginella helvetica*. Atti Accad. naz. Lincei, Ser. VIII **28**, 73—76 (1960).

HUTNER, S. H., and L. PROVASOLI: The Phytoflagellates. In A. LWOFF, Biochemistry and physiology of Protozoa. New York: Academic Press 1951.

HUZISIGE, H., T. TERADA, M. NISHIMURA and T. UEMURA: Effect of amino acids and streptomycin on the chlorophyll formation in *Euglena*. Biol. J. Okayama Univ. **3**, 209—222 (1957). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **132**, 53 (1959).

JÍROVEC, O.: Der Einfluß des Streptomycins und Patulins auf einige Protozoen. Experientia (Basel) **5**, 74—77 (1959).

KANDELER, R.: Über die Wirkung von Dunkelrot- und Weißlicht auf die Anthocyanbildung nach Ausschaltung der Chlorophyllbildung durch Antibiotica. Naturwissenschaften **46**, 452—453 (1959).

— Über die Lichtabhängigkeit der Anthocyanbildung. Flora (Jena) **149**, 487—519 (1960).

LANCE-NOUGARÈDE, A.: Développement inframicroscopique des chromoplastes, au cours de l'ontogenèse des fleurs ligulées de *Chrysanthemum segetum* L. C. R. Acad. Sci. (Paris) **250**, 173—175 (1960).

LEDOYEN, M.: L'action de la streptomycine sur la formation de la chlorophylle et de la protochlorophylle. Bull. Soc. roy. Sci. Liège **26**, 226—233 (1957).

LEFORT, M.: Étude de quelques mutants chlorophylliens induits chez *Lycopersicum esculentum* MILL. Analyse des pigments et de l'infrastructure des chloroplastes normaux et altérés. Rev. Cytol. biol. végét. **20**, 1—159 (1959).

MENKE, W.: Zur Entwicklungsgeschichte der Plastiden von *Oenothera hookeri* und Morphogenese der Chloroplastenstruktur. Z. Naturforsch. **14**b, 394—398 (1959).

PRINGSHEIM, E. G.: Algenreinkulturen, ihre Herstellung und Erhaltung. Jena: Gustav Fischer 1954.

— and O.: Experimental elimination of chromatophores and eye-spot in *Euglena gracilis*. New Phytologist **51**, 65—76 (1952).

PROVASOLI, L., S. H. HUTNER and A. SCHATZ: Streptomycin-induced chlorophyllless races of *Euglena*. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **69**, 279—282 (1948).

— —, and I. J. PINTNER: Destruction of chloroplasts by streptomycin. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **16**, 113—120 (1951).

RÖBBELEN, G.: Untersuchungen über die Entwicklung der submikroskopischen Chloroplastenstruktur in Blattfarbmutanten von *Arabidopsis thaliana*. Z. Vererb.-Lehre **90**, 503—506 (1959).

ROSEN, W. G.: Plant growth inhibition by streptomycin and its prevention by manganese. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **85**, 385—388 (1954).

—, and S. R. GAWLIK: The influence of magnesium on chlorophyll inhibition by streptomycin. Plant Physiol. **34**, Suppl., XIX (1959).

ROSSNER, W.: Licht- und elektronenoptische Untersuchungen über den Einfluß von Streptomycin auf *Sinapis alba* L. Protoplasma **52**, 580—610 (1960).

RUBIN, B. A., and M. E. LADYGINA: Greening of seedlings as affected by streptomycin. Dokl. Akad. Nauk. SSSR. **124**, 1163—1166 (1959). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **140**, 154 (1960).

SAGER, R., and G. E. PALADE: Chloroplast structure in green and yellow strains of *Chlamydomonas*. Exp. Cell Res. **7**, 584—588 (1954).

SATO, Y.: Effect of streptomycin on the chlorophyll formation in the timothy. I. Morphological observation. Keiô J. Med. 8, 187—198 (1959). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **148**, 55 (1960).

Siegelman, H. W., and S. B. Hendricks: Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. Plant Physiol. **32**, 393—398 (1957).

Signol, M.: Étude des modifications cytologiques induites par la dihydrostreptomycine chez les plantules d'orge. C. R. Soc. Biol. (Paris) **148**, 263—265 (1954).

Sosnová, V., u. E. Hrabětová: Die Wirkung von D-Chloramphenicol auf die zytoplasmatischen Strukturen meristematischer Zellen. Naturwissenschaften **45**, 22—23 (1958).

Steffen, K., u. F. Walter: Die Chromoplasten von *Solanum capsicastrum* L. und ihre Genese. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Plastidenmetamorphose. Planta (Berl.) **50**, 640—670 (1958).

Stubbe, W., u. D. v. Wettstein: Zur Struktur erblich verschiedener Chloroplasten von *Oenothera*. Protoplasma **45**, 241—250 (1956).

Vávra, J.: The action of streptomycin on the flagellate *Euglena gracilis* Klebs. Folia Biol. **2**, 351—355 (1956). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **113**, 336 (1957) u. Aaronson u. Scher 1960.

Wettstein, D. v.: Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exp. Cell Res. **12**, 427—506 (1957).

— Multiple allelism in induced chlorophyll mutants. II. Error in the aggregation of the lamellar discs in the chloroplast. Hereditas (Lund) **46**, 700—708 (1960).

Wolken, J. J.: A molecular morphology of *Euglena gracilis* var. *bacillaris*. J. Protozool. **3**, 211—221 (1956).

Prof. Dr. Horst Drawert und Dr. Marianne Mix,
Botanisches Institut der Universität, Marburg a. d. Lahn, Pilgrimstein 4

Planta 57, 71—87 (1961)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen

ZUR PHYSIOLOGIE DER ACHSENGESTALTUNG BEI *KALANCHOË BLOSSFELDIANA*

I. Mitteilung

DIE HAUPTACHSE

Von

ROBERT BÜNSOW

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 16. März 1961)

Die höheren Pflanzen vollziehen ihre Entwicklung in zwei aufeinanderfolgenden Phasen, der vegetativen und der generativen, die sich in Gestalt und Funktion wesentlich unterscheiden. Seit der Entdeckung des Photoperiodismus besitzt der Experimentator ein besonders einfaches Verfahren, den generativen Zustand seiner Versuchspflanzen zu jeder beliebigen Zeit und in jeder gewünschten Stärke herbeizuführen. Obwohl bei den Pflanzen zahlreiche Vorgänge durch die Tageslänge beeinflußt werden, richtete sich das Interesse der Untersucher überwiegend auf die Blütenbildung, so daß die Kenntnis der anderen photoperiodischen Reaktionen relativ unvollkommen blieb. Einen der umfangreichsten Versuche, diese Lücke zu schließen, verdanken wir HARDER und seiner Schule (letzte Zusammenfassungen HARDER 1946, 1948), durch welchen die Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana* zu einem der klassischen Objekte des Photoperiodismus geworden ist. Die Untersuchungen galten vor allem den Gesetzmäßigkeiten und Faktoren der *Blattgestaltung*. Ihre wesentlichsten Ergebnisse können den Lehrbüchern entnommen werden. Im Zusammenhang mit dem Übergang in die generative Phase treten bei *Kalanchoë* auch charakteristische Veränderungen des *Achsenverbandes* auf (HARDER, v. WITSCH und BODE 1942), zu deren Analyse die vorliegenden Untersuchungen beitragen sollen.

Die Versuche wurden in den Jahren 1953—1958 in den Versuchsgewächshäusern des Pflanzenphysiologischen Institutes mit den dort üblichen Methoden durchgeführt. Die Versuchspflanzen wurden im Sommer bei natürlichem Licht, im Winter mit zusätzlichem Glühbirnenlicht in der Mitte der Dunkelzeit (Störlicht) vegetativ herangezogen. Zur Induktion der generativen Phase wurde den Pflanzen vorübergehend ein Teil der täglichen Lichtzeit entzogen. Danach wurden sie bis zum Abschluß der Versuche wieder dem Langtag ausgesetzt.

Die morphologischen Begriffe werden in Anlehnung an Troll (1937, 1954 und 1957) benutzt. Die statistische Beurteilung der Ergebnisse erfolgte nach PÄTAU (1943) und KOLLER (1953).

Die longitudinale Symmetrie

Aus Samen aufgezogene Exemplare von *Kalanchoë* entwickeln in den ersten Monaten nur die Hauptachse, an deren Knoten die Blätter dekussiert stehen. Später treten ähnlich gebaute Seitenachsen hinzu. Das Wachstum der Internodien ist in weitem Maße von der Tageslänge abhängig (HARDER und v. WITSCH 1940). Kurztagexemplare haben gestauchte, Langtagexemplare haben gestreckte Internodien (z. B. HARDER 1946, Abb. 1). Das geringe Internodienwachstum im Kurztag (mit täglichen Lichtzeiten unter 12,5 Std, meist 9 Std) ist keine Lichtmangelerscheinung, sondern eine photoperiodische Reaktion, denn sowohl eine Verlängerung des Kurztages durch schwaches, photosynthetisch unbedeutendes Licht, als auch eine relativ kurze Unterbrechung der zum Kurztag gehörenden Langnacht durch sog. Störlicht bewirken wie Langtag (tägliche Lichtzeit über 12,5 Std) eine Streckung der Internodien.

Abb. 1. Langtag-Kurztagexemplar. *EB* Endblüte (durch die linke Seitenachse zum größeren Teil verdeckt)

Läßt man auf dieselbe Pflanze in Abständen von einigen Monaten verschiedene Tageslängen einwirken, so entstehen an der Hauptachse Bereiche mit unterschiedlicher Internodienlänge. Das läßt sich besonders eindeutig an solchen Arten nachweisen, die unter diesen Bedingungen vegetativ bleiben. So beeinflußt bei noch nicht blühreifen Exemplaren von *Bryophyllum daigremontianum* die jeweils herrschende Tageslänge das Wachstum der Internodien im gleichen Sinne wie bei *Kalanchoë*.

Kompliziertere Verhältnisse treten dann auf, wenn als Folge der photoperiodischen Einwirkung Blütenstände ausgebildet werden. Bei *Kalanchoë* ist das stets der Fall, wenn die tägliche Lichtzeit die kritische Tageslänge von 12,5 Std unterschreitet. Unter natürlichen Lichtbedingungen geschieht das alljährlich im Herbst, worauf die Pflanzen

im Laufe des Winters blühen. Hinzu kommt noch, daß der Einfluß einer bestimmten Tageslänge nach dem Übergang in eine andere noch eine Zeit lang nachwirken kann. Wie bei anderen Kurztagpflanzen klingt auch bei *Kalanchoë* die Wirkung des *Langtages* im Kurztag schnell ab. Die Nachwirkung des *Kurztages* hält dagegen länger vor. Ihre Dauer nimmt zu mit der Anzahl der Kurztage, die auf die Pflanze eingewirkt haben. Schon wenige Kurztagwochen klingen im Langtag erst nach vielen Monaten ab.

Besonders deutliche Wachstumsunterschiede erhält man dann, wenn der Wechsel der Tageslänge plötzlich vorgenommen wird.

In Abb. 1 ist eine Pflanze wiedergegeben, die von der Aussaat an im Langtag aufgewachsen war und dann unvermittelt 4 Wochen lang Kurztag (tägliche Lichtzeit 9 Std) erhielt. An ihrer Achse lassen sich 3 Wachstumsbereiche unterscheiden: 1. Ein unterer Bereich mit stärkerem Wachstum, 2. Ein mittlerer Bereich mit geringem Wachstum, 3. Ein oberer Bereich mit besonders starkem Wachstum der Internodien. Unmittelbar über dem längsten Internodium schließt die Hauptachse mit einer Endblüte ab, so daß sich insgesamt eine Längenkurve der Internodien mit 2 Maxima und 2 alternierenden Minima entsprechend Abb. 3 ergibt. Wie kommt dieser verhältnismäßig ungewöhnliche Aufbau zustande?

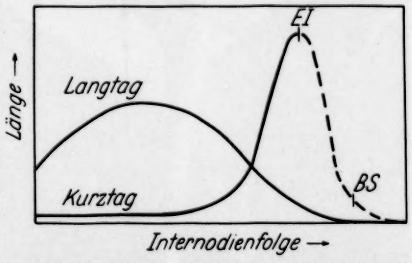


Abb. 2. Internodienkurve (Abhängigkeit der Länge der Internodien von ihrer Stellung an der Pflanze) bei Langtag- und bei Kurztagexemplaren. *EI* Endinternodium, *BS* Blütenstiel

Bei *Langtagexemplaren* nimmt infolge der allgemeinen Erstarkung der Pflanze die Länge der Internodien von unten nach oben zu, erreicht ein Maximum und nimmt im Bereich des noch unausgewachsenen Achsenabschnittes wieder ab (Abb. 2, Langtag). Da die Hauptachse beliebig lange weiterwächst, rückt das Maximum der Internodienkurve im Laufe der Zeit höher. *Kurztagexemplare* haben dagegen eine ganz andere longitudinale Symmetrie. Infolge der Kurztagwirkung bleiben zunächst alle Internodien kurz. Nach der Ausbildung von etwa 6 Internodien schließt die Hauptachse mit einer Endblüte ab. Nachdem diese angelegt worden ist, strecken sich die beiden obersten Internodien (Abb. 2, Kurztag), besonders das oberste, das Endinternodium (Abb. 2, *EI*). Von den Internodien der Endblüte hat nur noch der Blütenstiel (Abb. 2, *BS*) eine nennenswerte Länge. Alle übrigen Internodien bleiben extrem kurz. Da das Wachstum der Hauptachse begrenzt ist, bleibt das Maximum der Internodienkurve räumlich fixiert. Obwohl demnach die Internodienkurven in beiden Tageslängen eingipflig sind, gestatten Lage und Höhe der Maxima eine eindeutige Unterscheidung.

Vergleicht man damit den Achsenaufbau der *Lang-Kurztagexemplare* (Abb. 1), so wird ersichtlich, daß deren longitudinale Symmetrie im wesentlichen durch die Aufeinanderfolge beider Tageslängen bedingt ist. Das geht auch deutlich aus der entsprechenden graphischen Darstellung hervor (Abb. 3, Internodien). Im unteren Teil der Hauptachse, im Bereich des ersten, flacheren Maximums wurde das Wachstum durch den Langtag bestimmt. Die gestauchte Zone und das zweite, höhere Maximum wurden durch den Kurztag hervorgerufen. *Der zweigipflige Kurvenzug der Abb. 3 ist demnach weitgehend eine (phasenverschobene) Überlagerung der beiden in Abb. 2 dargestellten Kurvenzüge. Dem Langtagexemplar ist ein Kurztagexemplar aufgesetzt worden.*

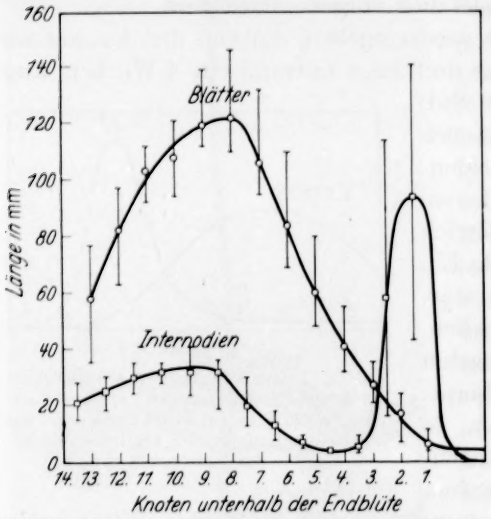


Abb. 3. Verhältnis der Internodienlänge zur Blattlänge bei Langtag-Kurztagexemplaren. Die Enden der senkrechten Geraden geben die gemessenen Extremwerte an

Auf welche Weise wirkt die Tageslänge auf das Internodienwachstum? Auch bei *Kalanchoë* ist der Perzeptionsort des photoperiodischen Einflusses nicht die Achse, sondern das Blatt. Durch die Wirkung des Lichtes müssen demnach in den Blättern Stoffe entstehen, die nicht nur das Wachstum der Blätter bestimmen, sondern auch in die Achse wandern und dort das Wachstum der Internodien regulieren. Vergleicht man die Blattgröße mit der Internodienlänge, so ergeben sich bei Langtagexemplaren andere Beziehungen als bei Kurztagexemplaren. Bei *Langtagexemplaren* stehen die größten Blätter im Bereich der längsten Internodien. Zwischen der Blattgröße und der Internodienlänge besteht eine positive Korrelation. Bei *Kurztagexemplaren* dagegen stehen die größten Blätter im Bereich der kurzen Internodien, die kleinsten Blätter, die letzten unterhalb der Endblüte, aber an den Knoten, welche die längsten Internodien begrenzen. Daher besteht zwischen Blattgröße und Internodienlänge eine negative Korrelation. Auch in dieser Hinsicht sind *Lang-Kurztagexemplare* das Ergebnis einer phasenverschobenen Überlagerung von Langtaghabitus durch Kurztaghabitus. Auch bei ihnen tritt nur ein Maximum der Blattgröße auf (Abb. 3, Blätter). Es liegt im ersten Streckungsbereich der Achse und ist wie dieser ein Symptom des allgemeinen Erstarkungswachstums der Pflanze.

Die relative Lage der beiden Kurven läßt vermuten, daß im *unteren Bereich* zwischen Blattgröße und Internodienlänge eine kausale Beziehung besteht, und zwar in dem Sinne, daß von einem jeden Blatt (-paar) ein Wachstumsimpuls ausgeht, der

a) proportional der Größe des Blattes ist, und

b) sich in erster Linie auf das Internodium auswirkt, welches sich *unterhalb* des betreffenden Blattes befindet.

Die Bestätigung dieses Zusammenhanges erbrachte ein Versuch, in dem vegetativen Exemplaren jeweils ein, zwei oder drei junge Blattpaare abgeschnitten wurden. An den so behandelten Pflanzen blieben stets diejenigen Internodien kürzer, die sich unmittelbar unterhalb der abgeschnittenen Blätter befanden (Abb. 4). Die gleichen Beobachtungen konnten auch an *Bryophyllum*-Arten gemacht werden. *Demnach ist die Sproßachse nicht nur morphologisch, sondern auch physiologisch segmentiert, wobei die Segmente relativ selbständig sein können. Ein jedes Blattpaar bildet mit seinem „Hypophyll" eine funktionelle Einheit.*

Abb. 4. Wachstumshemmung des Internodiums durch frühzeitige Entfernung des darüberstehenden Blattpaares. Der Pfeil weist auf die Narbe

Im *oberen Bereich* der Sproßachse herrschen dagegen andere Beziehungen. Wie bei reinen Kurztagexemplaren entspricht dem 2. Maximum der Internodienlänge (im rechten Teil der Abb. 3) kein äquivalenter Vorgang bei den Blättern, deren Länge bis zur Endblüte weiterhin abnimmt. Hier müssen demnach noch andere Einflüsse mitwirken, zu deren Verständnis noch zwei weitere Umstände berücksichtigt werden müssen.

1. Von den Blättern geht auch eine Fernwirkung aus, die an allen wachstumsfähigen Teilen in Erscheinung tritt. Besonders einflußreich sind Blätter, die dem Kurztag ausgesetzt sind. Schon ein einziges Kurztagblatt an einem sonst im Langtag befindlichen Exemplar hemmt das Wachstum der jüngeren, weit über ihm befindlichen Internodien (Harder und v. Witsch 1940, Abb. 13). Diesem Umstand verdankt die

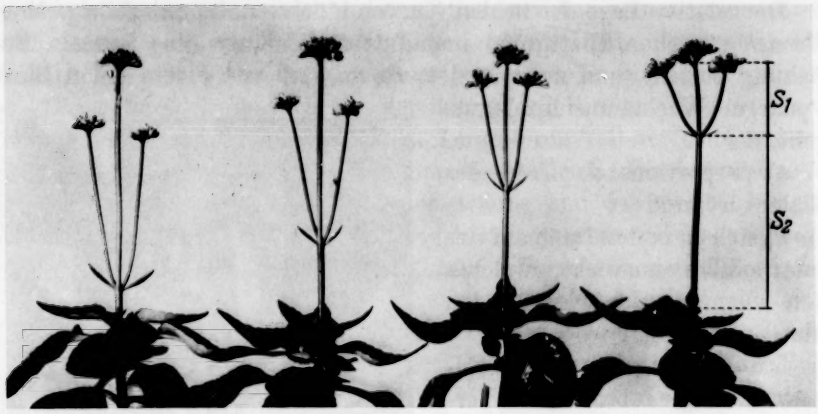


Abb. 5. Bei konstanter Gesamtlänge ist die Länge des einen Separationsinternodiums umgekehrt proportional der Länge des anderen

Zone der kurzen Internodien seine Entstehung. Die von den Langtagblättern ausgeübte Fernwirkung ist dagegen bei *Kalanchoë* bedeutend schwächer (MEYER 1947) und spielt auch bei unserem Problem nur eine geringe Rolle.

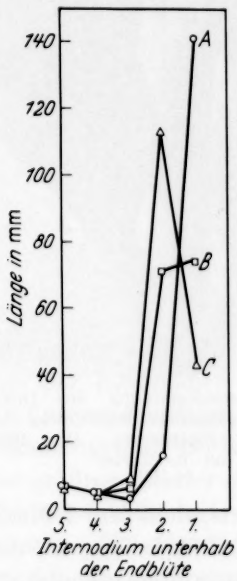


Abb. 6. Länge der obersten 5 Internodien von 3 gleichalten, unter gleichen Bedingungen aufgewachsenen Langtag-Kurztagexemplaren

2. Die Streckung der obersten Internodien findet erst dann statt, wenn die Inflorescenzanlage makroskopisch sichtbar geworden ist. Das Ausmaß der Streckung ist weitgehend proportional der Größe des Blütenstandes. Das Wachstum unterbleibt, wenn die Blütenstandsanlage entfernt wurde. Blütenanlagen sind bekanntlich ergiebige Wuchsstoffquellen. Das besonders intensive Wachstum der obersten Internodien ist daher keine primäre photoperiodische Reaktion sondern eine Folge der photoperiodischen Blütenbildung.

Während demnach das Wachstum der Achse im unteren und im mittleren Bereich durch die Blätter reguliert wird, erhalten die obersten Internodien vom Blütenstande her einen zusätzlichen Wachstumsimpuls. Durch diesen wird die endständige Inflorescenz als funktionelle Einheit weit über den Bereich der Laubblätter emporgehoben. Eigenartig ist, daß sich dieser Separationsimpuls stets auf die beiden jüngsten Internodien beschränkt und auch nicht auf die benachbarten Blätter übergreift. Das geht auch aus Abb. 3 hervor, deren Werte von sechs Pflanzen stammen. Diese wurden aus einer

größeren Zahl gleichalter und gleichen Bedingungen ausgesetzter Pflanzen so ausgewählt, daß neben 2 Exemplaren mit mittleren Werten je 2 in beiden Richtungen besonders extrem abweichende Exemplare vertreten waren. Um das Ausmaß der Variabilität anzugeben, sind zu jedem Mittelwert auch die Extremwerte eingezeichnet. Dadurch wird noch eine weitere Besonderheit sichtbar: Die Variabilität der beiden Separationsinternodien übertrifft weit die aller anderen.

Vier ausgewählte Pflanzen sind in Abb. 5 dargestellt. Trotz weitgehender Übereinstimmung im Unterbau ist bei den beiden linken

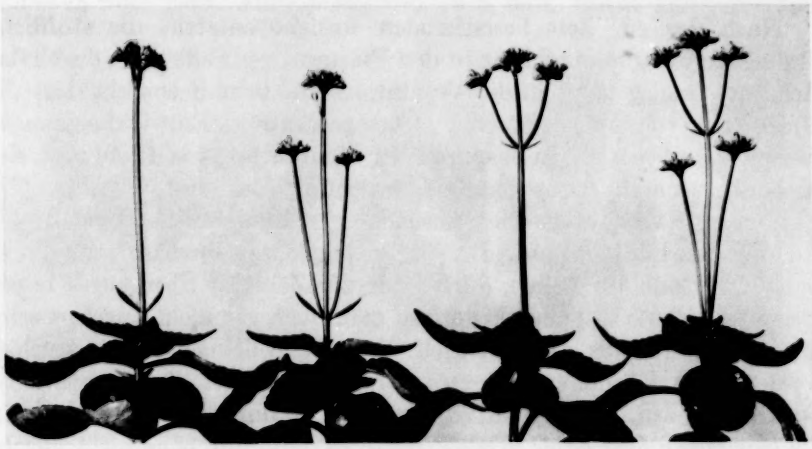


Abb. 7. Die seitenständigen Inflorescenzen haben keine Wirkung auf den Separationsprozeß der Hauptachse

Pflanzen das obere, bei den beiden rechten Pflanzen jedoch das untere Separationsinternodium das längere. Jedoch ist das Längenverhältnis der beiden Internodien keineswegs beliebig sondern streng gesetzmäßig. In dem Maße, in dem die Länge des Endinternodiums abnimmt, nimmt die Länge des unteren Separationsinternodiums zu. Beide zusammen sind dabei stets annähernd gleich lang.

Einen quantitativen Einblick gestattet Abb. 6. Auch bei den extremsten Vertretern, den Pflanzen A und C, sind das 5. und das 4. Internodium von oben noch gleich lang. Das Längenverhältnis der beiden Separationsinternodien $S_1 : S_2$ betrug bei der Pflanze A rund 9, bei der Pflanze C jedoch nur 0,4. Daß die Geraden A, B und C sich in einem Punkte schneiden, folgt aus der Konstanz von $S_1 + S_2$.

Da diese Unterschiede unter gleichen Außenbedingungen auftreten, wird man nach Ursachen in der Pflanze suchen müssen. Zunächst könnte an die endständige Inflorescenz gedacht werden. Zwar enthält sie im allgemeinen um so weniger Blüten, je kürzer das Endinternodium ist, aber die gleichzeitig zunehmende Länge des vorletzten Internodiums

kann dadurch nicht ohne weiteres erklärt werden. Als zusätzliche Wuchsstoffquellen kommen auch noch die seitenständigen Inflorescenzen in Betracht, besonders diejenigen, die an den Knoten zwischen den beiden Separationsinternodien entspringen. Wie aber Abb. 7 zeigt, ist ihr Vorhandensein oder Fehlen ohne wesentlichen Einfluß. Der in ihnen wirksame Separationsimpuls greift nicht auf die Hauptachse über. Haupt- und Seitenachsen verhalten sich in dieser Beziehung weitgehend autonom.

Die Plastogenese als Faktor der Inflorescenzentwicklung

Nach der zur Zeit herrschenden Ansicht entsteht die stoffliche Grundlage der Blütenbildung in den Blättern, verbreitet sich durch das Achsensystem, gelangt in die Vegetationspunkte und bewirkt dort die Umstellung von der vegetativen zu der generativen Entwicklungsweise. Der endständige Vegetationspunkt der Hauptachse von *Kalanchoë*, der vorher in einem rhythmischen Formwechsel die Anlagen von beblätterten Knoten und von Internodien absonderte, geht daraufhin ganz in der Bildung der Endblüte auf. Da die Separationsinternodien aber direkt unter der Endblüte stehen, dürften sie zur Zeit des Überganges in die generative Phase erst unvollkommen oder noch gar nicht angelegt sein. Da der Blühimpuls experimentell zu jeder beliebigen Zeit ausgelöst werden kann, könnte er auch zu jeder beliebigen Zeit den Vegetationspunkt erreichen, die vegetative Entwicklung unterbrechen und sie in die generative überleiten. Dabei dürfte es dann durchaus nicht gleichgültig sein, in welchem plastogenetischen Alter des Vegetationspunktes, in welchem Entwicklungszustand der jüngsten Internodienanlagen diese einschneidende Umstellung erfolgt.

Um diese Vermutung experimentell zu überprüfen, müssen Pflanzen, deren Vegetationspunkte in verschiedenem plastogenetischen Zustand sind, gleichzeitig photoperiodisch induziert werden. Doch läßt sich der jeweilige Zustand des Vegetationspunktes nicht ohne erhebliche Eingriffe feststellen, deren Folgen den gesuchten Effekt in unkontrollierbarer Weise verändern können. Es mußte daher ein Weg gefunden werden, den plastogenetischen Zustand des Vegetationspunktes indirekt zu ermitteln. Diesem Zweck bot sich der Zustand der Endknospe an.

Im Gegensatz zu den älteren Blättern, die schon waagerecht stehen, sind die jüngsten Blätter dem Vegetationspunkt angeschmiegt und bilden mit ihm gemeinsam die Endknospe. Von dieser löst sich jeweils das älteste Blattpaar durch verstärktes Wachstum seines adaxialen Teiles allmählich ab. Die Ablösung der Blätter beginnt an ihrer Spitze, so daß nach einer gewissen Zeit der Blick auf das nächstjüngere Blattpaar freigegeben wird. Die Ablösung eines Blattpaares kann als beendet angesehen werden, wenn sich der gleiche Vorgang am nächstjüngeren

Blattpaar zu wiederholen beginnt und dadurch das drittjüngste Blattpaar sichtbar wird. Während einer jeden Ablösungsperiode wird am Vegetationspunkt ein neues Primordienpaar gebildet. Die Dauer einer Ablösungsperiode entspricht daher einem Plastochron, der Zeit von der Bildung eines Primordienpaares bis zur Bildung des nächsten. *Dem periodischen Formwechsel des Vegetationspunktes entspricht demnach ein periodischer Formwechsel der Endknospe mit gleicher Frequenz aber unbekanntem Phasenverhältnis.*

Dementsprechend wurde eine größere Anzahl vegetativer Pflanzen (Aussaat Juli 1956, Alter 6 Monate) nach dem Entwicklungszustand

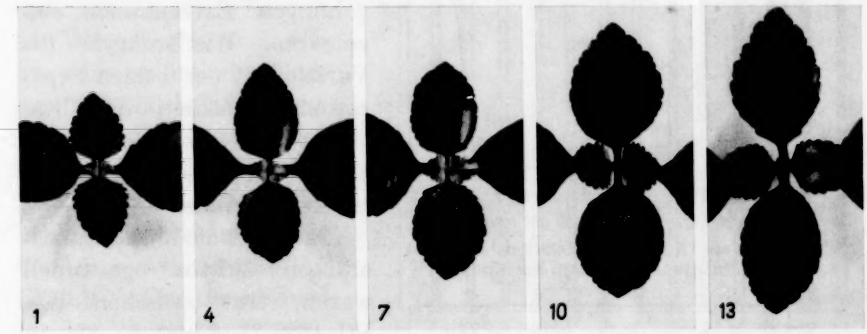


Abb. 8. Aufsicht auf die Pflanzen 1, 4, 7, 10 und 13. Außer der Endknospe sind noch die beiden nächstälteren Blattpaare sichtbar. Der Entwicklungszustand der Endknospe schreitet von links nach rechts fort. Die äußersten Zustände überlappen sich

ihrer Endknospe in eine Reihe geordnet und aus dieser 13 Pflanzen ausgewählt. Zwölf von ihnen befanden sich in zwölf möglichst gleichmäßig fortschreitenden Stadien der Ablösungsperiode. Die 13. entsprach wieder dem Zustand der Ersten. Als Beginn und Ende der Reihe (Pflanze Nr. 1 und 13) wurde derjenige Zustand der Endknospe gewählt, in dem zwischen den Innenflächen des äußersten Blattpaares der Endknospe die Spitzen des zweitältesten Blattpaares soeben sichtbar wurden. Die Pflanzen Nr. 1, 4, 7, 10 und 13 sind in Abb. 8 in Aufsicht dargestellt. Sichtbar sind dort außer der Endknospe nur noch die beiden nächstunteren Blattpaare. Allen Pflanzen wurden die ältesten, zum Teil schon überalteten Blätter abgeschnitten, so daß sie einheitlich außer der Endknospe noch 8 Blattpaare behielten. Da bei der Pflanze 13 das soeben abgelöste Blatt noch mit zur Endknospe gezählt wurde, besaß sie gegenüber der Pflanze 1 ein Blattpaar mehr. An allen Pflanzen wurde das 5. Blatt von oben mit einem Ring markiert. Einige Tage später wurde nach den gleichen Gesichtspunkten eine weitere Reihe von 13 Pflanzen ausgewählt. Beide Reihen erhielten 25 Kurztage (tägliche Lichtzeit 9 Std) und kamen anschließend wieder in den Langtag (Störlicht).

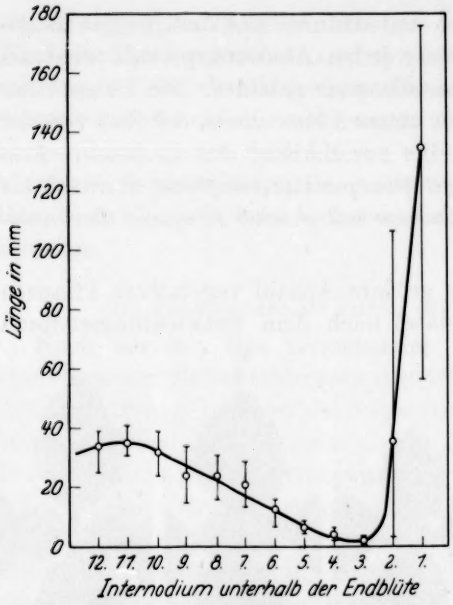


Abb. 9. Mittlere Länge und Variationsbreite des 1.—12. Internodiums unterhalb der Endblüte

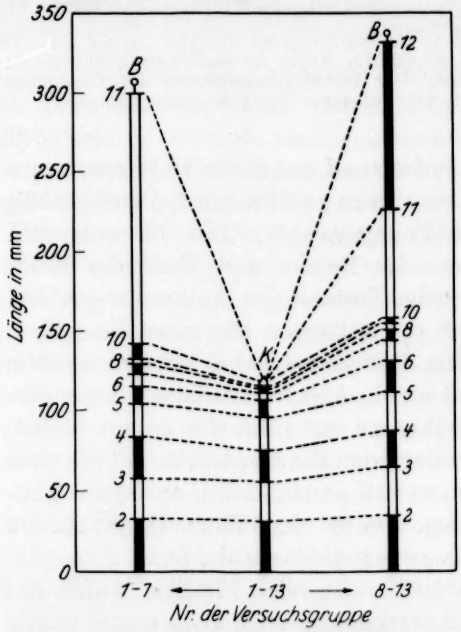


Abb. 10. Zustand der Hauptachse unmittelbar vor Beginn der Kurztagexposition (Mitte) und nach 4 Monaten (links der Pflanzen 1—7, rechts 8—13). *K* Endknospe, *B* Endblüte. Die Zahlen sind die Nummern der beblätterten Knoten

Beide Reihen verhielten sich in allen Reaktionen so übereinstimmend, daß hier nur die jeweiligen Mittelwerte berücksichtigt werden sollen.

Die mittlere Länge der Internodien aller 26 Pflanzen (Abb. 9) entspricht den bisherigen Befunden (Abb. 3). In Abb. 9 sind zu den Mittelwerten auch wieder die dazugehörigen Extremwerte eingetragen. Wiederum ist die Variabilität der beiden Separationsinternodien auffallend groß. Das durchschnittlich längste Internodium ist das Endinternodium.

Nachdem die Blütenstandsanlagen sichtbar geworden waren, trat zwischen den Pflanzen 1—7 und 8—13 ein besonders wichtiger und aufschlußreicher Unterschied zutage, der aus Abb. 10 hervorgeht. In der Mitte der Abbildung ist der mittlere Zustand aller Pflanzen unmittelbar vor Beginn der Kurztageinwirkung dargestellt. Auf die beblätterten Knoten 1—8 folgt die Endknospe K. Aus ihr haben sich bei den Pflanzen 1—7 drei Blattpaare, bei den Pflanzen 8—13 aber vier Blattpaare entwickelt. Daraus darf nicht gefolgert werden, daß im Vegetationspunkt die Bildung eines neuen Primordialpaares zwischen den Knospenzuständen 7 und 8 stattgefunden hatte. Zwar fand die Auswahl der Pflanzen

unmittelbar vor dem Beginn der Kurztageinwirkung, am Tage vor der ersten Langnacht statt. Da aber bei *Kalanchoë* mindestens 3—4 Kurztage erforderlich sind, um Blütenbildung hervorzurufen, kann der Blühimpuls erst 3—4 Tage nach Beginn der Kurztagexposition wirksam geworden sein. In dieser Zeit haben sich aber sowohl Endknospen wie Vegetationspunkte weiterentwickelt. Die genaue Phasenlage zwischen dem plastogenetischen Cyclus des Vegetationspunktes und dem Ablösungscyclus der Endknospe kann erst eine mikroskopische Untersuchung ermitteln. Wir dürfen aber annehmen, daß zu dem Zeitpunkt, als der Blühimpuls im Vegetationspunkt wirksam wurde, die Pflanzen der Versuchsgruppe 8 sich im plastogenetisch jüngsten Zustand befanden, die Pflanzen der Gruppe 7 den plastogenetisch ältesten Zustand aufwiesen.

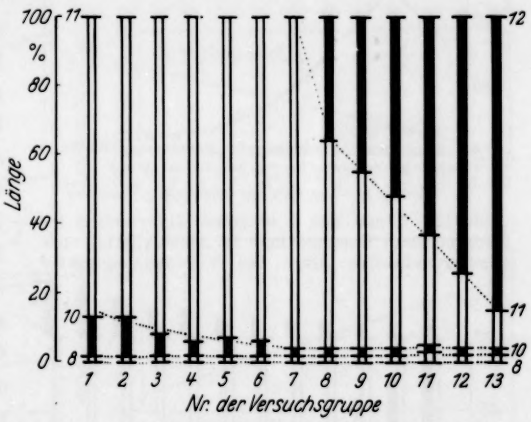


Abb. 11. Länge der Internodien vom Knoten 8 bis zur Endblüte in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Endknospe vor der Kurztagexposition

Wenden wir uns wieder den Längenverhältnissen zu (Abb. 10). Der Unterschied in der Gesamtlänge zwischen den Gruppen 1—7 und 8—13 ist statistisch nicht gesichert. Vergleicht man den Endzustand der Pflanzen mit ihrem Ausgangszustand, so wird ersichtlich, daß die untersten Internodien (links bis zum Knoten 5, rechts bis 6) durch den Kurztag praktisch nicht beeinflußt wurden, denn sie waren schon zu Beginn der Kurztageinwirkung ausgewachsen. Dagegen wurde das Wachstum der 4 oder 5 folgenden Internodien (links bis zum Knoten 9, rechts bis 10) mit abnehmendem Alter zunehmend gehemmt. Der Separationsimpuls erstreckte sich bei den Pflanzen 1—7 in der Hauptsache nur auf das letzte, bei den Pflanzen 8—13 dagegen auf die beiden obersten Internodien. Allen Pflanzen ist gemeinsam, daß der Kurztag (primär und sekundär) die Gestalt der 6 obersten Internodien geprägt hat.

Einen genaueren Einblick in die Längenverhältnisse oberhalb des 8. Knotens vermittelt Abb. 11. Da die Gesamtlänge weitgehend konstant ist, sind dort Prozentwerte angegeben. Bei den Gruppen 1—7 nimmt die Länge des obersten Internodiums von links nach rechts zu, die des nächstunteren dementsprechend ab. Das 3. Internodium bleibt unverändert. Von der Gruppe 8 an ist ein weiteres Internodium hinzugekommen (in Abb. 10 und 11 schwarz gezeichnet). Von da an

bleibt die Länge des bisherigen zweitobersten, des jetzigen drittobersten Internodiums konstant. Veränderlich sind wiederum nur die beiden obersten Internodien. Für die weitere Erörterung des Separationsproblems ist es daher sinnvoller, die Bezifferung der Internodien nicht von unten sondern von oben zu beginnen.

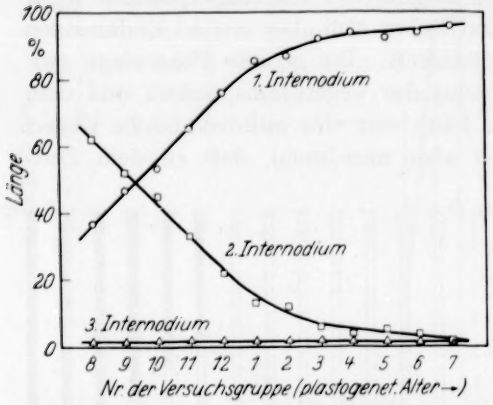


Abb. 12. Länge der 3 obersten Internodien (in Prozent ihrer Gesamtlänge) in Abhängigkeit vom plastogenetischen Alter des Vegetationspunktes

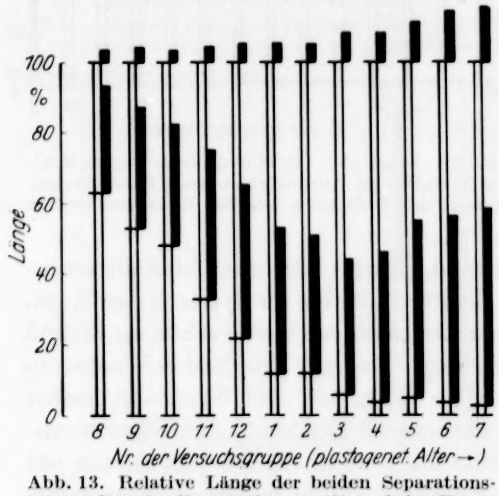


Abb. 13. Relative Länge der beiden Separationsinternodien der Hauptachse (weiß) und der Hypopodien der beiden obersten Seitenachsenpaare 1. Ordnung (schwarz) in Abhängigkeit vom plastogenetischen Alter des Vegetationspunktes

Vergleicht man in Abb. 11 die Länge der jeweiligen Endinternodien, so wird ersichtlich, daß eine Reihe mit zunehmender Länge bei der Gruppe 8 beginnt, über 13 und 1 weitergeht und bei Gruppe 7 endet. Obwohl die Pflanzen der Gruppe 13 zu Beginn der Kurztageinwirkung 1 Blattpaar mehr besaßen als die Pflanzen der Gruppe 1, lassen sich zwischen ihnen weder in bezug auf die Internodienlänge noch in bezug auf die anderen, weiter unten zu besprechenden Merkmale statistisch gesicherte Unterschiede feststellen. Daher soll bei den folgenden Darstellungen mit der Gruppe 8, dem plastogenetisch jüngsten Zustand begonnen werden. Die alten Gruppen 13 und 1 aber werden zu einer neuen Gruppe 1 zusammengefaßt.

Stellt man nach diesen Gesichtspunkten die relative Länge der drei obersten Internodien dar, so ergibt sich Abb. 12. Bei allen Pflanzen bleibt das 3. Internodium von oben vom Separationsimpuls weitgehend unbeeinflußt. Wird der Blühimpuls zu Beginn einer plastogenetischen Periode wirksam, so wird über 60% der Separationsstreckung durch das 2. Internodium von oben vollzogen. Mit zunehmendem plastogenetischen Alter nimmt dessen Länge ab, die Länge des Endinternodiums dagegen umgekehrt proportional zu, so

daß schließlich im anderen Extremfalle (Gruppe 7) die Separation der Inflorescenz nur noch durch das Endinternodium realisiert wird.

Auch die Länge der obersten Seitenachsen 1. Ordnung ist vom Entwicklungszustand der Endknospe abhängig und steht in positiver Korrelation zu der Länge des Endinternodiums der Hauptachse (Abb. 13, dazu vergleiche man auch die Abb. 5). Das gilt sowohl für die Seitenachsen des obersten Knotens, die mit ihren konsekutiven Abkömmlingen das Achsensystem der endständigen Partialinflorescenz

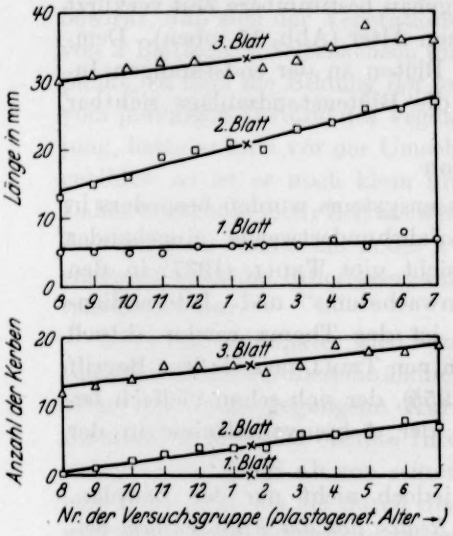


Abb. 14. Länge der Blätter sowie Anzahl der Kerben an den Blättern der 3 obersten Knoten in Abhängigkeit vom plastogenetischen Alter

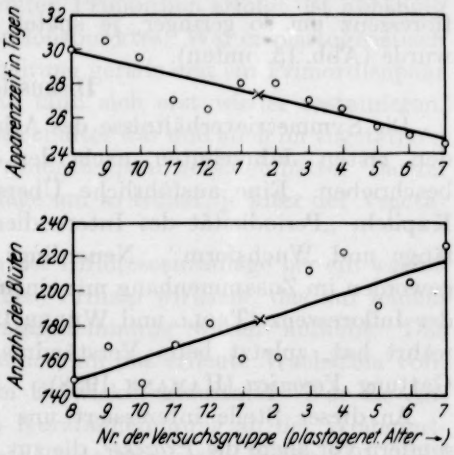


Abb. 15. Abhängigkeit der Apparenzzeit und der Blütenzahl der endständigen Inflorescenz vom plastogenetischen Alter der Endknospe

aufbauen, als für die Seitenachsen am 2. Knoten von oben. Beide entwickeln über ihrem untersten Internodium, dem Hypopodium, nur noch 2 gegenständige Vorblätter mit Achselsprossen sowie eine Endblüte. In Abb. 15 ist dementsprechend nur die Länge der Hypopodien dargestellt, die in diesem Falle zugleich die Endinternodien sind. Tiefer inserierte Seitenachsen traten in diesen Versuchen nicht auf.

Mit dem einsetzenden Blühimpuls erfolgt nicht nur eine Hemmung des Internodienwachstums, sondern auch eine Hemmung der Blattentwicklung. Während aber die Hemmung des Internodienwachstums im Bereich der Separationsinternodien wieder aufgehoben wird, ist die Reduktion der Laubblätter um so stärker, je näher sie der Endblüte stehen. Die Abhängigkeit der Blattform vom plastogenetischen Alter des Vegetationspunktes ist besonders deutlich beim 2. und 3. Blattpaar von oben ausgeprägt (Abb. 14). Ihre Größe (dargestellt durch die Länge) sowie die Anzahl der Kerben des Randes stehen in positiver Korrelation zu der Länge des Endinternodiums. Am stärksten brakteoid sind die

Blätter des obersten Paares. Besonders auffallend ist, daß sie keine Kerben haben, und daß auch ihre Länge konstant bleibt. Möglicherweise werden sie gemeinsam mit den obersten Seitenachsen 1. Ordnung und der Endblüte erst nach der Umstimmung des Vegetationspunktes angelegt.

Ein häufig benutztes Maß für die Stärke des Blühimpulses ist die Apparenzzeit, die Zeit zwischen dem Beginn der Kurztageinwirkung und dem ersten makroskopischen Sichtbarwerden der endständigen Infloreszenzanlage. Diese auf den Tag genau bestimmbare Zeit verkürzt sich mit zunehmendem plastogenetischen Alter (Abb. 15, oben). Dementsprechend ist auch die Anzahl der Blüten an der endständigen Infloreszenz um so geringer, je später die Blütenstandsanlage sichtbar wurde (Abb. 15, unten).

Diskussion

Die Symmetrieverhältnisse des Achsensystems wurden besonders in den ersten Jahrzehnten nach der Jahrhundertwende eingehender beschrieben. Eine ausführliche Übersicht gibt Troll (1937) in den Kapiteln „Periodizität des Internodienwachstums" und „Internodienlänge und Wuchsform". Neuerdings ist das Thema wieder aktuell geworden im Zusammenhang mit einem von Troll neugefaßten Begriff der Infloreszenz (Troll und Weber 1955), der sich schon vielfach bewährt hat, zuletzt beim Verständnis der Achsenverhältnisse in der Gattung *Veronica* (Hamann 1958).

An dieser Stelle interessiert uns jedoch nicht nur der Bauplan, sondern vor allem die *Prozesse*, die zur *Realisation der Pflanzenform* beitragen. Obwohl die Sicherheit in der Beurteilung besonders der zeitlichen Aufeinanderfolge der Vorgänge durch eine mikroskopische Untersuchung noch erhöht werden kann, soll doch schon ein Versuch unternommen werden, die oben dargestellten Korrelationen auf die wichtigsten Faktoren und ihre Kausalbeziehungen zurückzuführen. Im Rahmen dieser Arbeitshypothese muß besonders berücksichtigt werden das raumzeitliche Zusammenspiel zwischen

a) der Wachstumshemmung durch die Kurztagblätter,

b) der Wachstumsförderung durch die Inflorescenz und

c) dem plastogenetischen Zustand der durch a) und b) beeinflußten Pflanzenteile.

Kurztaghemmung und Separationsförderung wirken antagonistisch. Da sie auch aus entgegengesetzten Richtungen wirken, heben sie sich an einer bestimmten Stelle auf. Dieser Ort hat unter gegebenen Bedingungen eine konstante Entfernung von der Endblüte. Die Reaktionsweise der einzelnen Pflanzenteile aber ist in erster Linie abhängig von dem Entwicklungszustand, den sie bis zum Beginn der Reaktion erreicht hatten.

Im einzelnen dürften sich folgende Vorgänge abspielen:

1. Mit dem Beginn der Kurztageinwirkung setzt eine Wachstumshemmung ein, deren stoffliche Grundlage (zum Harderschen Meta-

plasin gehörend) von den photoperiodisch sensiblen Blättern ausgeht und sich im Laufe der Zeit auf die ganze Pflanze erstreckt. Ihre Wirkung ist abhängig vom Alter der reagierenden Organe. Internodien und Blätter werden um so stärker gehemmt, je kleiner sie zu Beginn der Kurztageinwirkung waren.

2. Einige Tage nach Beginn der Kurztageinwirkung wird durch ein anderes Prinzip gleicher Herkunft (Florigen) die bisherige vegetative Entwicklung des Vegetationspunktes umgeschaltet. Dieser Vorgang bewirkt, daß sich der Vegetationspunkt in der Bildung der Primordien von 2 Blättern, 2 Seitenachsen und der Endblüte aufbraucht. Der Zeitpunkt, zu dem die Bildung der letzten Primordien erfolgt, ist abhängig vom jeweiligen Zustand des Vegetationspunktes. War er plastogenetisch jung, hatte er kurz vor der Umschaltung gerade erst ein Primordienpaar gebildet, so ist er noch klein und muß sich erst wieder restaurieren. Daher braucht er mehr Zeit als wenn er älter war und auch im vegetativen Zustand bald wieder ein neues Primordienpaar gebildet hätte. Darum erscheint auch die Inflorescenzanlage um so früher, je älter der Vegetationspunkt war.

3. Einige Zeit später wird von der Inflorescenzanlage her ein wachstumsförderndes (gibberellinähnliches) Prinzip wirksam, das auf seinem Wege die vorhergegangene Kurztagshemmung wieder aufhebt. Das Ausmaß, in dem das oberste Internodium das erneute Wachstum vollziehen kann, hängt ab von seinem Entwicklungszustand. War die Anlage noch jung, als sie durch die Kurztaghemmung an der Weiterentwicklung verhindert wurde, so enthält sie nur relativ wenig Zellen. In ihr kann daher der Separationsimpuls weniger ausrichten als in einer älteren Anlage mit mehr Zellen. Daher ist die Länge des oberen Separationsinternodiums um so größer, je älter die Anlage zur Zeit der Kurztageinwirkung war. Je stärker das obere Separationsinternodium wachsen kann, um so mehr wird von der stofflichen Grundlage des Separationsimpulses verbraucht, um so weniger bleibt für das untere Separationsinternodium übrig. Dieses bleibt daher um so kürzer, je älter die Anlage des oberen Separationsinternodiums war.

4. Das oberste Blattpaar und die Endblüte sind nicht abhängig vom plastogenetischen Zustand des Vegetationspunktes. Sie entstehen erst nach der Entwicklungsumschaltung aus Primordien konstanter Größe. Was dabei übrig bleibt, kommt den Primordien der obersten Seitenachsen zugute, deren Größe daher mit dem Alter des Vegetationspunktes zunimmt.

Außerdem ist der plastogenetische Zustand des Vegetationspunktes eine bisher übersehene Ursache für die Variabilität photoperiodischer Versuchsergebnisse, die durch eine entsprechende Auswahl der Versuchspflanzen eliminiert werden kann. Da sich Vegetationspunkte während der Ontogenese auch langfristig verändern können, dürfte

der Einfluß ihres Entwicklungszustandes auf die Blühreaktion von noch allgemeinerer Bedeutung sein.

Zusammenfassung

1. Bei *Kalanchoë* ist die Gestaltung der Hauptachse weitgehend abhängig von der Tageslänge. An Pflanzen, die im Langtag aufgezogen und durch Kurztag zum Blühen veranlaßt wurden, lassen sich drei Bereiche mit unterschiedlichem Wachstum der Internodien unterscheiden.

a) Im unteren Bereich herrschen Verhältnisse wie bei reinen Langtagexemplaren. Die räumliche Verteilung der Internodienlänge entspricht einer flachen, eingipfligen Maximumkurve, in deren Gipfel sich das Erstarkungswachstum der Pflanze ausdrückt. In diesem Bereich besteht zwischen Internodienlänge und Blattgröße eine positive Korrelation, weil ein jedes Blattpaar als Rezeptor der photoperiodischen Lichtwirkung in erster Linie das Wachstum des unter ihm stehenden Internodiums beeinflußt. Der Sproß ist demnach auch physiologisch segmentiert, wobei ein jedes Blattpaar mit seinem „Hypophyll" eine besonders enge funktionelle Einheit bildet.

b) Nach dem Beginn der Kurztageinwirkung wird das Wachstum der obersten 5—6 Internodien und Blattpaare gehemmt (primäre Wirkung des Kurztages), wodurch im mittleren Teil der Achse ein Bereich kurzer Internodien hinterbleibt. Die Hemmung ist eine Fernwirkung der photoperiodisch sensiblen Blätter am unteren Bereich der Achse.

c) Nach der Anlegung der Blüten geht von der Infloreszenz ein Wachstumsimpuls aus (sekundäre Wirkung des Kurztages), der sich nur auf den oberen Bereich der Hauptachse erstreckt. Durch ihn wachsen die beiden obersten Internodien unterhalb der Endblüte, die Separationsinternodien, besonders intensiv heran und heben die Blüten weit über die Laubblätter empor.

Die Hauptachse reiner Kurztagexemplare setzt sich lediglich aus Internodien mit dem Charakter des mittleren und oberen Bereiches zusammen und wird durch eine Internodienkurve mit einem steilen Gipfel dargestellt, der gegen das rechte Ende der Kurve verschoben ist. Die zweigipflige Internodienkurve der Langtag-Kurztagexemplare entspricht demnach einer phasenverschobenen Überlagerung der Internodienkurven beider Tageslängen. Durch die photoperiodische Induktion wird dem vegetativen Langtagexemplar ein blühendes Kurztagexemplar aufgesetzt.

2. Die Gestaltbildung im Separationsbereich der Hauptachse und im Bereich der Inflorescenz ist außerdem noch abhängig vom plastogenetischen Zustand des Vegetationspunktes und seiner jüngsten Bildungen zur Zeit des Überganges von der vegetativen in die generative Phase. Die Entwicklungsgeschwindigkeit und die Größe der endständigen Infloreszenz, die Größe und der Ausbildungsgrad der oberen Blätter

und die Länge des oberen Separationsinternodiums nimmt zu mit zunehmendem plastogenetischen Alter des Vegetationspunktes. Unter gleichen photoperiodischen Bedingungen ist die Gesamtlänge der Separationsinternodien konstant. Die Länge des unteren Separationsinternodiums ist stets umgekehrt proportional der Länge des oberen. Größe und Gestalt des obersten Blattpaares der Hauptachse sowie der Endblüte bleiben dagegen weitgehend unbeeinflußt. — Die Ursachen werden diskutiert und in einer Arbeitshypothese zusammengefaßt.

3. Der plastogenetische Zustand des Vegetationspunktes einschließlich seiner jüngsten Bildungen ist eine bisher übersehene Ursache der Variabilität photoperiodischer Versuchsergebnisse, die durch eine entsprechende Auswahl der Versuchspflanzen eliminiert werden kann.

Diese Arbeit ist die gekürzte Fassung eines Teiles einer Habilitationsschrift der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen. Ich danke meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Harder, für seine wertvolle Hilfe, die meine Bemühungen wesentlich gefördert hat, sowie Herrn Prof. Dr. A. Pirson für sein Interesse und die Gewährung der Möglichkeit, die vorliegenden Untersuchungen abzuschließen.

Literatur

Hamann, U.: Morphologische und histogenetische Studien an *Veronica*-Arten. I. Zur Morphologie der Blütenstände im Hinblick auf einen allgemeinen Infloreszenzbegriff. Bot. Jb. **78**, 69 (1958).

Harder, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltbildung bei den Pflanzen. Naturwissenschaften **33**, 41 (1946).

— Vegetative and reproductive development of *Kalanchoë blossfeldiana* as influenced by photoperiodism. Symp. Soc. exp. Biol. **2**, 117 (1948).

—, u. H. v. Witsch: Über die Einwirkung von Kurztagsblättern auf im Langtag befindliche Blätter und Stengelteile der gleichen Pflanze. Untersuchungen zur Frage nach einem formbeeinflussenden Wirkstoff. Planta (Berl.) **31**, 523 (1940).

— — u. O. Bode: Über Erzeugung einseitig und allseitig verlaubter Infloreszenzen durch photoperiodische Behandlung von Laubblättern. Jb. wiss. Bot. **90**, 546 (1942).

Koller, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen, 3. Aufl. Darmstadt 1953.

Meyer, G.: Über die photoperiodische Beeinflußbarkeit des Habitus von *Sedum kamtschaticum*. Biol. Zbl. **66**, 1 (1947).

Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. Biol. Zbl. **63**, 152 (1943).

Troll, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. I, Teil 1. Berlin 1937.

— Praktische Einführung in die Pflanzenmorphologie. Jena 1954 u. 1957.

—, u. H. Weber: Morphologie einschließlich Anatomie. Fortschr. Bot. **17**, 36ff. (1955).

Doz. Dr. R. Bünsow,
Pflanzenphysiologisches Institut der Universität,
Göttingen, Untere Karspüle 2

Planta 57, 88—110 (1961)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen

ZUR PHYSIOLOGIE DER ACHSENGESTALTUNG BEI *KALANCHOË BLOSSFELDIANA*

II. Mitteilung
DIE SEITENACHSEN

Von

ROBERT BÜNSOW

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. April 1961)

In der I. Mitteilung (BÜNSOW 1961) wurde dargestellt, wie die Unterschiede zwischen der vegetativen und der generativen Entwicklungsphase in der Gestaltung der Hauptachse auftreten. Nicht minder verschieden ist die Entwicklung der Seitenachsen, worauf in dieser Mitteilung näher eingegangen wird. Ein Teil der Ergebnisse wurde zusammengefaßt 1956 auf der Tagung der Deutschen Botanischen Gesellschaft in Heidelberg vorgetragen (BÜNSOW 1957).

Bei *Kalanchoë* bilden die vegetativen Pflanzen im ersten Jahr nur Seitenachsen 1. Ordnung aus. Diese werden stets schon frühzeitig in den Achseln der Laubblätter angelegt, doch ihre Weiterentwicklung ist von der Tageslänge abhängig und kann sehr verschieden sein. Bei Langtagexemplaren, die im Winter ausgesät wurden, sind bis zum Sommer die Achselknospen der beiden untersten Knoten meist schon ausgetrieben, an den 3. und 4. Knoten von unten dagegen fast vollzählig im Knospenzustand verblieben. Auch an dem 5. Knoten befinden sich nur wenige Triebe. An den 6. und 7. Knoten steigt ihre Zahl schon wieder deutlich an und vom 8. Knoten aufwärts wachsen alle angelegten Knospen zu beblätterten Seitenachsen heran. Besonders auffallend ist, daß die Zone mit den gehemmten Seitenachsen etwa mit dem Knoten aufhört, mit dessen Bildung die Pflanze die Blühreife erreicht hat. Oberhalb der Hemmzone hat das Achsensystem den bekannten pyramidenförmigen Umriß. In diesem Bereich herrschen die gleichen korrelativen Zusammenhänge wie bei den meisten krautigen Dikotylen. Die Hauptachse dominiert über die Seitenachsen. Diese werden mit zunehmendem Alter ebenfalls länger, wachsen aber langsamer als die Hauptachse.

Wird die Endknospe der Hauptachse abgeschnitten, so treiben die obersten Seitenachsen sofort aus und übernehmen die Führung. Demnach wird das Wachstum der Seitenachsen durch die Spitze der Hauptachse reguliert, deren hemmende Wirkung (apikale Dominanz) durch die

Dekapitation beseitigt wird. Ganz ähnliche Vorgänge müssen sich in Pflanzen abspielen, die durch den Einfluß des Kurztages in die Phase der Blütenbildung eingetreten sind, denn auch sie gehen aus der bisherigen basi-mesotonen Verzweigung in eine akrotone Verzweigungsweise über[1]. Auch bei ihnen treiben aus den Achseln der obersten Blattpaare kräftige Seitenachsen, die mit ihren konsekutiven Abkömmlingen den Blütenstand aufbauen. Durch die Streckung der Separationsinternodien gliedert sich die Gesamtinflorescenz in die endständigen und die seitenständigen Partialinflorescenzen[2]. Jede von ihnen besteht unten aus Dichasien und läuft oben in Wickel aus.

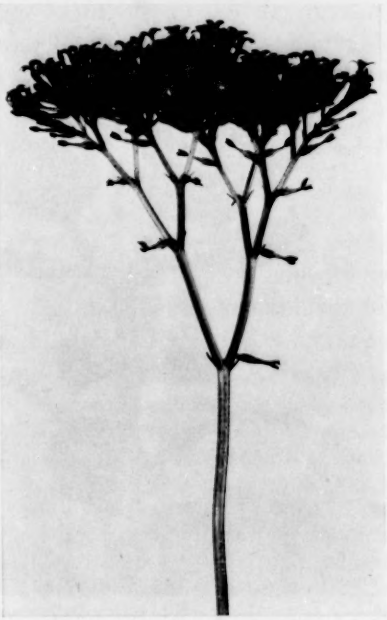


Abb. 1. Endständige Partialinflorescenz

Betrachten wir den Vorgang genauer. Nach dem Übergang zur Blütenbildung schließt die Hauptachse mit einer Endblüte ab. Wie nach einer Dekapitation treiben nun aus den Achseln des obersten Laubblattpaares 2 kräftige Seitenachsen aus (Abb. 1). Diese bilden nur 1 Paar Vorblätter (Brakteen) und endigen dann auch ihrerseits in einer Blüte. Nachdem durch Wiederholung dieses Vorganges noch einige weitere dichasiale Stufen entstanden sind, wächst nur noch die jeweils äußere Achselanlage aus, rückt in die Verlängerung ihrer Mutterachse und drängt deren Endblüte zur Seite. Auf den letzten Stufen der Inflorescenz setzt die Weiterentwicklung der Anlagen aus, so daß der Blütenstand mit rudimentären Gliedern abschließt. Der Übergang zu dieser Zone wird gelegentlich durch Zwergblüten vermittelt.

Der Übergang in die generative Phase ist demnach mit einer grundlegenden Umstellung der Verzweigungsweise verbunden, die sich mit der entsprechenden Wachstumsveränderung durch zahlreiche aufeinanderfolgende Dekapitationen vergleichen läßt. Bisher war es üblich, die Ursache der neuauftretenden Verzweigungsweise in der generativen

[1] Auf die Wiedergabe von Abbildungen muß hier verzichtet werden. Auch aus den Abbildungen früherer Arbeiten, z. B. Harder und Bünsow (1954), Abb. 5, läßt sich ein Eindruck von dem gewinnen, was hier gemeint ist.

[2] Diese Einteilung beruht auf dem Erscheinungsbild. Der Inflorescenzbegriff von Troll betont andere Zusammenhänge.

Umorganisation der Vegetationspunkte zu sehen, die ja nacheinander in der Bildung einer Blütenanlage aufgehen und dadurch einer *physiologischen Dekapitation* unterliegen. Diese Vorstellung ist jedoch nicht mehr haltbar.

Nach dem Vorbilde von HARDER und seiner Schule lassen sich zwischen der reichblühenden und der vegetativen Pflanze zahlreiche Übergänge herstellen. Mit abnehmendem Blühimpuls verringert sich die Zahl der seitenständigen Partialinflorescenzen, bis schließlich nur noch die endständige entsteht. Auch diese kann reduziert werden, wobei die zuletzt angelegten Glieder zuerst fortfallen. Mit zunehmender Reduktion der Achsenzahl erhöht sich der Verlaubungsgrad der Brakteen. Unterhalb einer bestimmten Intensität des Blühimpulses bilden die letzten konsekutiven Seitenachsen des Blütenstandes keine Blüte mehr, sondern setzen ihr Wachstum vegetativ fort. Derartige *umgestimmte Inflorescenzen* enthalten meist weniger als 50 Blüten. Mit weiter abnehmendem Blühimpuls verringert sich auch die Zahl der in Blüten endenden Achsen weiter, bis im Extremfalle nur noch eine einzige Blüte, die Endblüte der Hauptachse, angelegt und ausgebildet wird (Abb. 2). Die Übereinstimmung einer derartigen Inflorescenz mit einer dekapitierten Pflanze ist ganz besonders frappant. Sie wird verständlich, wenn man berücksichtigt, daß der Vegetationspunkt der Hauptachse schon beim Übergang zur Blütenbildung seinen Bau und damit seinen Stoffwechsel weitgehend verändert und schließlich in der Bildung der Endblüte ganz aufgeht. Die Seitenachsen 2. Ordnung stehen jedoch schon wieder unter dem hemmenden Einfluß ihrer vegetativ gebliebenen Mutterachsen.

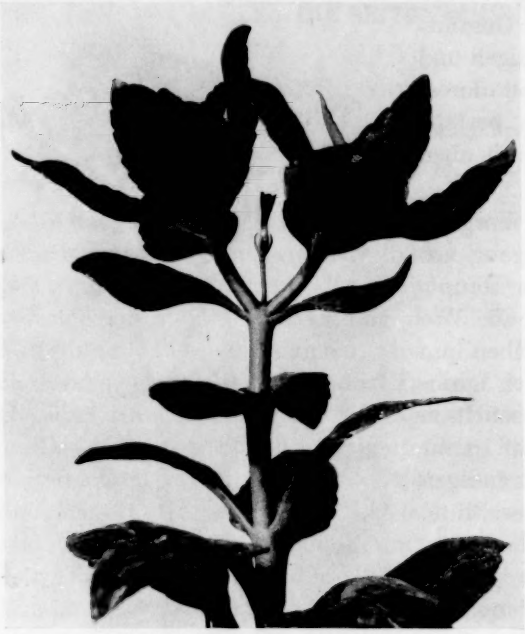


Abb. 2. Einblütige Inflorescenz

Diese Erklärung wird jedoch fragwürdig, wenn man berücksichtigt, daß unter den gleichen photoperiodischen Bedingungen neben wenigblütigen Inflorescenzen auch stark verlaubte inflorescenzartige Bildungen

auftreten können, die anscheinend völlig blütenlos sind und deshalb *vegetative Inflorescenzen* genannt wurden (HARDER, v. WITSCH und BODE 1942). Da unter ähnlichen Bedingungen auch eine Reduktion der Blüten bis auf ihren Kelch auftreten kann, ist es denkbar, daß die vegetativen Inflorescenzen durch eine noch stärkere Reduktion der Blüten entstanden sind, was möglicherweise bisher übersehen wurde. Wenn das aber nicht zutreffen sollte, muß die Enthemmung der Seitenachsen bei der Inflorescenzbildung auf ganz anderen Gründen als den bisher erwogenen beruhen. Die Alternative lautet demnach: Ist die Enthemmung der Seitenachsen eine Folge der Blütenbildung, oder findet sie schon vor der Blütenanlegung statt? Beschränkt man den Begriff der Inflorescenzbildung auf die Ausbildung des Achsensystems der Inflorescenz, so lautet die Frage: Ist die Blütenbildung Voraussetzung der Inflorescenzbildung, oder sollte gar die Inflorescenzbildung Voraussetzung der Blütenbildung sein?

Wegen der grundsätzlichen Bedeutung dieser Frage wurde ein großer Versuch angesetzt, in welchem rund 1300 Pflanzen unterschiedlicher Kurztageinwirkung ausgesetzt wurden, so daß neben reichblühenden und vegetativen Pflanzen auch noch zahlreiche Übergänge entstanden.

Dazu wurden aus dem Vorrat 1458 Pflanzen (Aussaat Januar 1954, Alter 5 Monate) ausgewählt und in Gruppen zu je 9 Pflanzen eingeteilt. Jeweils 18 Gruppen wurden zu einer Reihe zusammengefaßt, so daß insgesamt 9 Reihen zur Verfügung standen. Eine Reihe verblieb im Langtag und diente als Kontrolle. Durch eine entsprechende Verdunklung der einzelnen Gruppen (Dunkelstürze mit eingebauter Lüftung) erhielt jede der anderen Reihen eine bestimmte Anzahl photoperiodischer Cyclen (Kurztage). Da der Platz für eine gleichzeitige Behandlung aller Pflanzen nicht ausreichte, erhielten zuerst die Reihen 1—4 entsprechend ihrer Bezifferung 1—4 Cyclen. Die Reihen 5—8 wurden im Anschluß daran 4—7 Cyclen ausgesetzt. Die Gruppen einer jeden Versuchsreihe erhielten 24stündige Cyclen mit unterschiedlicher Dauer der Licht- und Dunkelzeiten. In allen Reihen blieb die erste Gruppe dauernd verdunkelt (Lichtzeit 0 Std). Die folgenden Gruppen erhielten täglich 1, 2, 3 usw. bis 11 Std Licht. Die letzten 6 Gruppen wurden $11^1/_2$, $11^3/_4$, 12, $12^1/_4$, $12^1/_2$ und 13 Std dem Licht ausgesetzt (siehe die Koordinaten der Abb. 4). Nach dem Abschluß der Behandlung kamen die Pflanzen wieder in den Langtag zurück.

Als Beispiel sei zunächst die Reihe herausgegriffen, die 5 Tage lang mit einer täglichen Lichtzeit von 0—13 Std behandelt wurde. In der 2. Spalte der Tabelle 1 ist für jede Gruppe die mittlere Anzahl der Tage bis zum Erscheinen der Inflorescenzanlage angegeben, wobei für die vegetativ gebliebenen Pflanzen die Zahl 100 eingesetzt wurde. Die 3. Spalte enthält die Anzahl der vegetativ gebliebenen Pflanzen, die 4., 5. und 6. Spalte die Anzahl der Pflanzen mit vegetativen, umgestimmten und normalen Inflorescenzen.

Die dauernd verdunkelten Pflanzen blieben vegetativ. Mit zunehmender Lichtzeit traten zuerst vegetative Inflorescenzen auf, die in

zweistündiger Lichtzeit vorherrschten. Dann überwogen umgestimmte und schließlich normale Inflorescenzen. Die für die Blütenbildung optimale Tageslänge lag bei 8 Std. Von da an nahm der Blühimpuls wieder ab, und dementsprechend waren wieder die anderen Inflorescenztypen, zum Schluß die vegetativen Pflanzen in der Überzahl. Für unser Problem ist besonders wichtig, *daß Inflorescenzbildung in einem größeren Tageslängenbereich stattfindet als Blütenbildung.* Das bedeutet, *daß die für die Inflorescenzbildung wesentliche Enthemmung der Seitenachsen bereits bei einer schwächeren photoperiodischen Induktion einsetzt als die Blütenbildung.*

Tabelle 1. *Inflorescenzbildung nach 5 diurnalen Cyclen mit Lichtzeiten von 0—13 Std*

Tägliche Lichtzeit in Std	Mittlere Apparenzzeit in Tagen[1]	Inflorescenzen				Mittlere Anzahl der Blüten
		keine	vegetative	umgestimmte	normale	
0	100	9				0
1	94	8	1			0
2	59	2	5	2		0,2
3	42		4	5		4,4
4	37			3	6	82
5	36			1	8	153
6	33				9	185
7	32				9	194
8	31				9	223
9	34				9	209
10	36				9	215
11	40		1	2	6	88
$11^1/_2$	43		2	5	2	30
$11^3/_4$	45		2	6	1	24
12	50	1	3	5		1,6
$12^1/_4$	81	6	2	1		0,3
$12^1/_2$	94	8	1			0
13	100	9				0

[1] Für vegetative Pflanzen wurde 100 eingesetzt.

Die vermittelnde Stellung der vegetativen Inflorescenzen zwischen den rein vegetativen und den blühenden Pflanzen kommt besonders

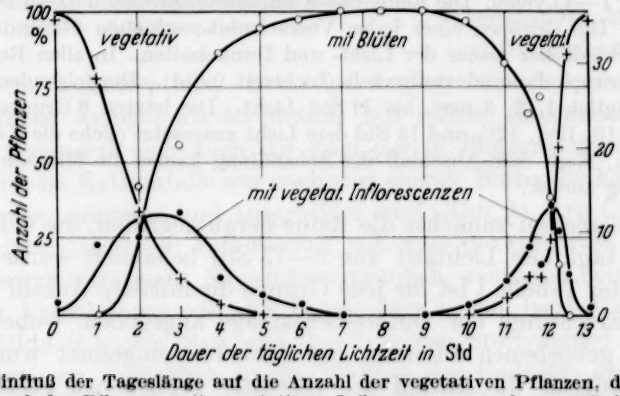


Abb. 3. Einfluß der Tageslänge auf die Anzahl der vegetativen Pflanzen, der blühenden Pflanzen und der Pflanzen mit vegetativen Inflorescenzen nach einer Behandlung mit 4—7 photoperiodischen Cyclen. Linke Ordinate in %, rechte absolut

deutlich zum Ausdruck, wenn man die Ergebnisse der Reihen mit 4 bis 7 Cyclen zusammenfaßt (Abb. 3). Die Zahl der blühenden Pflanzen ist

im Bereich der optimalen Tageslänge maximal und nimmt nach beiden Seiten hin ab. Dementsprechend verhält sich die Zahl der rein vegetativen Pflanzen umgekehrt. *Für die Entstehung vegetativer Inflorescenzen gibt es jedoch 2 optimale Tageslängen*, eine bei 2—3, die andere bei 12 Std.

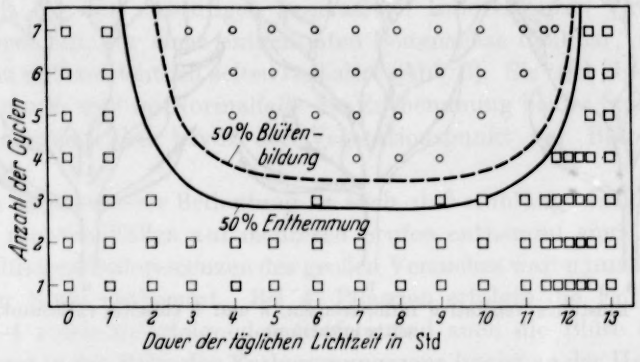


Abb. 4. Enthemmung der Seitenachsen (Inflorescenzbildung) und Blütenbildung in Abhängigkeit von der Cyclenzahl und der Dauer der Lichtzeit

Einen Überblick über den gesamten Versuch gestattet Abb. 4. Mit einem Quadrat sind die Gruppen gekennzeichnet, in denen überhaupt keine Blütenbildung auftrat, mit einem Kreis die Gruppen, in denen alle Pflanzen blühten. In dem dazwischenliegenden Raum befinden sich 2 Kurven, deren Verlauf durch Interpolation ermittelt wurde. Die unterbrochene Kurve verbindet alle Bedingungen, unter denen die Hälfte der Pflanzen geblüht hätten, die durchgehende alle Bedingungen, unter denen bei der Hälfte der Pflanzen Inflorescenzen, also enthemmte Seitenachsen aufgetreten wären, gleichgültig ob mit oder ohne Blütenbildung. *In allen Fällen findet mit zunehmendem Blühimpuls zuerst die Enthemmung der Seitenachsen (Inflorescenzbildung), dann erst auch Blütenbildung statt.*

Tabelle 2. *Apparenzzeit verschiedener Blütenstandstypen*

Inflorescenz	Anzahl der Pflanzen	Mittlere Apparenzzeit in Tagen
Einstufig vegetativ .	108	$49{,}6 \pm 0{,}7$
Mehrstufig vegetativ	100	$41{,}8 \pm 1{,}1$
Einstufig generativ .	9	$40{,}9 \pm 2{,}3$
Mehrstufig generativ		
umgestimmt . . .	147	$40{,}2 \pm 0{,}3$
normal	293	$33{,}5 \pm 0{,}1$

Dementsprechend verhalten sich auch die Apparenzzeiten (die Zeiten vom Beginn der photoperiodischen Induktion bis zum Sichtbarwerden) der Blütenstandsanlagen gemäß Tabelle 2. Dort ist noch unterschieden zwischen einstufigen und mehrstufigen Inflorescenzen, je nachdem ob die Enthemmung der Seitenachsen nur an einem Knoten oder an zwei und mehr aufeinanderfolgenden Knoten stattfand. Die drei mittleren

Inflorescenztypen haben annähernd gleiche Apparenzzeit, lassen sich aber durch die Anzahl der Blüten eindeutig unterscheiden.

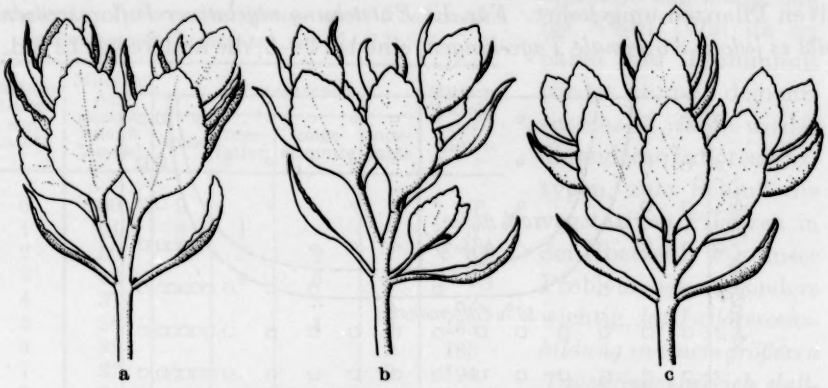


Abb. 5 a—c. Einstufige vegetative Inflorescenzen, a und b einseitig enthemmt, c beidseitig enthemmt

Sogar innerhalb der einstufigen vegetativen Inflorescenzen läßt sich noch ein geringer Unterschied feststellen, je nachdem ob beide Seitenachsen der betreffenden Stufe oder nur eine enthemmt wurde (Abb. 5). Die Apparenzzeit der einseitig verzweigten Gebilde ist nicht selten etwas länger als die der beidseitig enthemmten Form, doch treten statistisch signifikante Unterschiede nur gelegentlich auf (Tabelle 3).

Abb. 6. Einblütige Inflorescenz, nur rechtsseitig enthemmt

Tabelle 3. *Apparenzzeit einseitig und beidseitig enthemmter einstufiger vegetativer Inflorescenzen*

Anzahl der enthemmten Seitenachsen	Anzahl der Pflanzen	Mittlere Apparenzzeit in Tagen
1	17	$50{,}7 \pm 1{,}0$
2	12	$45{,}0 \pm 1{,}5$

Auf die einstufigen folgen mit zunehmendem Blühimpuls mehrstufige vegetative Inflorescenzen. Bei diesen wiederholt sich der gleiche Enthemmungsvorgang noch auf einer oder zwei, seltener auf drei weiteren Stufen. Das führt zu einer großen Zahl von Formen, deren Abhandlung hier zu weit führen würde. Allen gemeinsam aber ist, *daß sie keinerlei Anzeichen von Blütenbildung erkennen lassen. Die durch eine Enthemmung der Seitenachsen bedingte Inflorescenzbildung tritt stets schon vor der Blütenbildung auf. Sie ist daher nicht die Folge der Blütenbildung, sondern eine selbständige photoperiodische Reaktion.* Die

photoperiodisch verursachte physiologische Dekapitation der Pflanze findet schon *vor* dem Übergang zur Blütenbildung statt. Anschließend kann der Vegetationspunkt zur Bildung einer Blüte übergehen oder im vegetativen Zustand verbleiben. Im Gegensatz zur mechanischen ist die photoperiodische Dekapitation reversibel.

Auch bei den einstufigen generativen Inflorescenzen (Abb. 2) ist eine Form mit nur einer enthemmten Seitenachse denkbar, wird aber nur ganz außerordentlich selten realisiert (Abb. 6). Sie tritt eben deshalb so selten auf, weil im Normalfalle die Enthemmung beider Seitenachsen schon maximal ist, bevor der Vegetationspunkt zur Blütenbildung übergeht.

Von allgemeinerer Bedeutung ist auch, daß einblütige Inflorescenzen in den meisten Fällen auf mehreren Stufen enthemmt sind. Von den 56 einblütigen Inflorescenzen des großen Versuches waren nur 9 auf einer einzigen Stufe enthemmt. Bei 47 Pflanzen erfolgte die Enthemmung auf 2—4 aufeinanderfolgenden Stufen, und auch die Blüte trat nicht selten erst in der Mitte der Enthemmungszone (meist an der Hauptachse, seltener an einer der Seitenachsen) auf. Demnach *beginnt die Enthemmung der Seitenachsen nicht nur früher als die Blütenbildung, sondern hört auch später auf.* Das letztere zeigen auch die mehrblütigen umgestimmten Inflorescenzen. Auf die letzten in Blüten endenden Achsen folgen vegetative, die aber an ihrer Basis häufig noch enthemmte Tochterachsen hervorbringen.

Die enthemmten Seitenachsen setzen sich gleichwertig neben ihre Mutterachse und halten in der Regel auch weiterhin mit ihr Schritt (Abb. 7). Gelegentlich treten jedoch auch Pflanzen auf, bei denen einzelne Seitenachsen die anderen deutlich überragen, ohne jedoch die Länge der Mutterachse zu erreichen. Eine derartige unvollständige Enthemmung erstreckt sich meist nur auf die Achsen eines einzigen Knotens. Sie kann dort wiederum eine oder beide Seitenachsen ergreifen und an diesen auch verschieden stark auftreten (Abb. 8). *Im Gegensatz zur mechanischen Dekapitation ist die photoperiodische Enthemmung kein Alles-oder-nichts-Vorgang, sondern kann auch Zwischenwerte erreichen.*

Bei *Kalanchoë* ist die Verzweigungsweise im Sommer anders als im Winter. Im Sommer wachsen die Seitenachsen in der bereits beschriebenen Weise aus, im Winter jedoch bleiben sie stark gehemmt und treten meist nicht aus den Blattachseln hervor. Alle bisher beschriebenen Ergebnisse wurden an Pflanzen gewonnen, die im Winter ausgesät und im Sommer zu Versuchen benutzt wurden. Läßt man solche Pflanzen noch älter werden, so hört im Winter das Auswachsen der Seitensprosse wieder auf, und der obere Teil der Pflanzen bleibt unverzweigt (Abb. 9, links). Pflanzen, die im Sommer ausgesät wurden, haben dagegen einen anderen Habitus. Da die Sämlinge relativ langsam heranwachsen und erst von

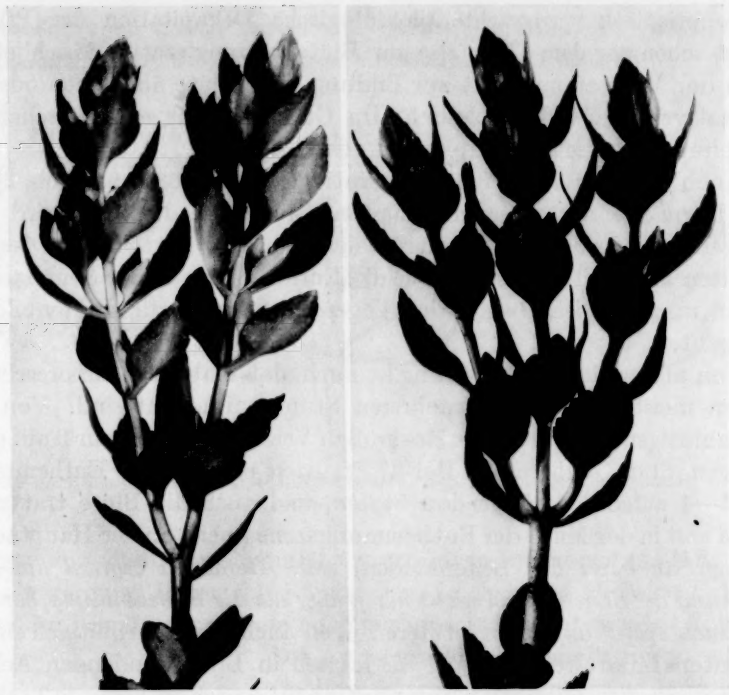
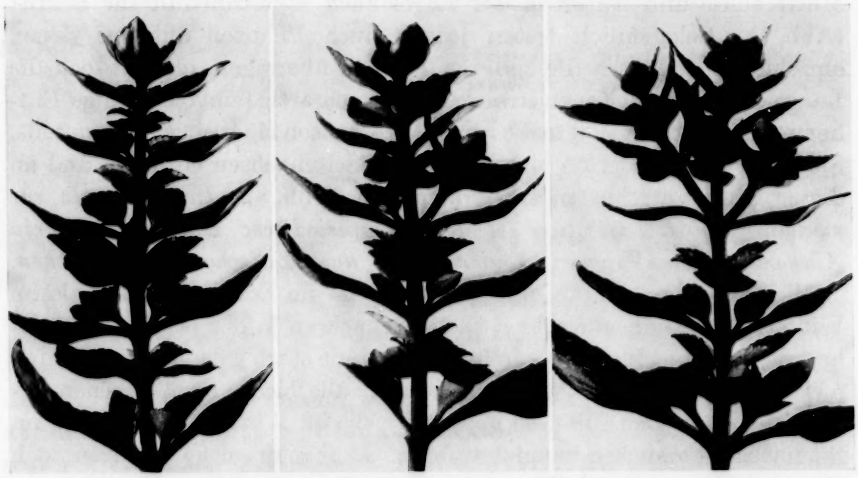


Abb. 7. Ältere vegetative Inflorescenzen. Enthemmung nur auf einer Stufe, links einseitig, rechts beidseitig



a b c

Abb. 8. a Pflanze mit normalem Wachstum der Seitenachsen (Kontrolle), b und c mit unvollständiger Enthemmung der Seitenachsen. b einseitig, c beidseitig enthemmt, der linke Zweig vollständig (Grenzfall der Inflorescenzbildung), der rechte Zweig unvollständig. Foto 6 Monate nach der Kurztageinwirkung

einem bestimmten Alter an Seitensprosse hervorbringen können, bleiben sie während des ersten Winters meist unverzweigt (Abb. 9, rechts).

Es ist nun die Frage, ob auch bei unverzweigten Pflanzen (Winterhabitus) eine schwache Kurztageinwirkung die Seitenachsen enthemmen kann, ohne daß Blüten gebildet werden. Ein entsprechender

Abb. 9

Abb. 10

Abb. 9. Verzweigungsweise von Langtagexemplaren, links einer Winteraussaat, 12 Monate alt (im oberen Teil Winterhabitus), rechts einer Sommeraussaat, 7 Monate alt

Abb. 10. Langtagexemplar einer Juniaussaat, bis zum folgenden Januar unverzweigt. Nach zweimaliger Kurztageinwirkung Enthemmung der Seitenachsen in 2 Bereichen. Foto 4 Monate nach der ersten Kurztageinwirkung

Versuch wurde mit unverzweigten Exemplaren einer Sommeraussaat (vom Juni 1954) unternommen. Den Zustand zu Beginn des Versuches zeigt die rechte Pflanze der Abb. 9. Den Pflanzen wurde das Störlicht zuerst im Januar 1955 für 4 Nächte, dann nach über einem Monat im Februar zum zweiten Mal für 2, zum Teil auch für 3 Nächte entzogen. Ein großer Teil der Pflanzen hatte mit sehr schwacher Blütenbildung reagiert und entwickelte stark verlaubte Blütenstände. Einige Pflanzen waren nur durch einen der beiden Impulse beeinflußt worden. 13 Exemplare ließen jedoch 2 Enthemmungszonen erkennen (Abb. 10).

Tabelle 4. *Zweimalige Enthemmung der Seitenachsen an unverzweigten Langtagexemplaren (Winterhabitus) durch zweimalige Kurztageinwirkung*

Nr. des Knotens von oben	Zahl der enthemmten Achsen in Prozent aller	Mittlere Länge aller Seitenachsen in mm
1	0	
2	0	
3	0	3
4	27	5
5	46	14
6	92	34
7	92	35
8	38	10
9	88	42
10	85	53
11	23	14
12	12	8
13	4	3
14	0	

Einige Mittelwerte von diesen 13 Pflanzen (Zustand vom Mai 1955) sind in Tabelle 4 enthalten. Maximale Enthemmung trat auf am 6. und 7. sowie am 9. und 10. Knoten unterhalb der Endknospe. In der dritten Spalte ist die mittlere Länge aller Seitenachsen angegeben. Die enthemmten Seitenachsen sind entsprechend ihrem Prozentsatz noch länger.

Als *Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse* ist in Abb. 11 eine Auswahl der besprochenen Verzweigungstypen in einer Reihenfolge dargestellt, die von links nach rechts zunehmender Kurztageinwirkung entspricht. Dargestellt sind in eine Ebene versetzte, besonders charakteristische Ausschnitte des Achsenverbandes. Alle Laubblätter sind weggelassen, die Blüten als Kreise eingezeichnet. Die Schemata 1—5 setzen sich nach oben vegetativ fort. Bei 6 beginnt über den Dichasien die Wickelbildung. Beim Langtagexemplar mit Sommerhabitus (Schema 1) wachsen die Seitenachsen nur relativ langsam heran. Erhält eine Pflanze vorübergehend Kurztag, so werden die zur Zeit der

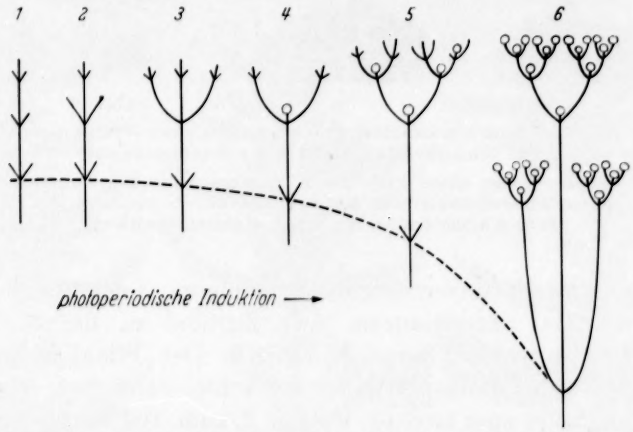


Abb. 11. Verzweigungstypen, von links nach rechts mit zunehmender Kurztagwirkung. Achsenabschnitte als Striche, Blüten als Kreise eingezeichnet. *1* Langtagexemplar (Sommerhabitus), *2* unvollständige Enthemmung der Seitenachsen einer Stufe, *3* vollständige Enthemmung (einstufige vegetative Inflorescenz), *4* Enthemmung und Blütenbildung (einstufige generative Inflorescenz), *5* Enthemmung und Blütenbildung auf mehreren Stufen (umgestimmte Inflorescenz, dazu auch *4*), *6* Enthemmung und Blütenbildung auf allen Stufen der endständigen Partialinflorescenz (normale Inflorescenz) sowie Bildung seitenständiger Partialinflorescenzen

Kurztageinwirkung jüngsten Axillarien mehr oder weniger enthemmt, und die aus ihnen hervorgehenden Seitensprosse ragen nach einigen Monaten stärker hervor (2) oder haben sich gleichwertig neben die Hauptachse gesetzt (3). Erst ein noch stärkerer Kurztageinfluß ruft dann auch Blütenbildung hervor (4—6). Enthemmungsimpuls und Blühimpuls können während der Inflorescenzentwicklung nachlassen (4 und 5) oder anhalten (6). Der Enthemmungsimpuls beginnt früher (3) und hört später auf als der Blühimpuls (5). Werden die stofflichen Grundlagen beider Impulse während der Inflorescenzbildung nicht aufgebraucht (6), können nach dem Absterben der ersten Blütenstände weitere entstehen (rhythmisches Blühen; HARDER und GÜMMER 1953). Die Zahl der seitenständigen Partialinflorescenzen nimmt ebenfalls mit der Stärke des Blühimpulses zu, wird aber auch durch andere Faktoren erheblich beeinflußt.

Diskussion

Was an der Pflanze diskontinuierlich, von Knoten zu Knoten, neben- und übereinander sichtbar wird, ist der Ausdruck einer kontinuierlichen Veränderung ihres physiologischen Zustandes, der im Laufe der Zeit eine Skala zwischen extrem vegetativ und extrem generativ in beiden Richtungen durchschreiten kann (Abb. 12, Ordinate). Als Maß für den generativen Zustand werden die Apparenzzeit der Inflorescenzanlage, die Anzahl der Blüten und andere Eigenschaften benutzt. Dagegen ist der vegetative Zustand bisher noch nicht quantitativ erfaßt worden. Dazu könnte etwa der Sukkulenzgrad der Laubblätter oder deren Größe und Gestalt (Frondosität) oder auch die Länge der Internodien benutzt werden, doch müßte erst untersucht werden, wie weit diese Merkmale dafür geeignet sind. Durch die vorliegenden Ergebnisse erscheint es gerechtfertigt, als Maß für den vegetativen Zustand der Pflanze auch die relative Länge der Seitenachsen zu benutzen. Diese nimmt zu mit zunehmender Annäherung an den generativen Zustand. Häufig genügt es schon, die Größe der Seitenachsen mit der Größe der Endknospe zu vergleichen. Je stärker die Dominanz der Hauptachse ist, um so langsamer wachsen die Seitenachsen heran und um so mehr Knoten befinden sich deshalb zwischen der Endknospe und derjenigen Achselknospe, welche der Endknospe am ähnlichsten ist. Sind z. B. die Achselknospen am 2. Knoten unterhalb der Endknospe noch kleiner, die am 3. Knoten bereits schon größer als die Endknospe, so liegt ein so definierter *Dominanzwert* zwischen 2 und 3. Ist die Dominanz ganz aufgehoben, so treten die enthemmten Seitenknospen gleichwertig neben die Endknospe, und der Dominanzwert beträgt Null.

Welche Maße man auch benutzen wird, die Gestalt der Pflanze ist das Ergebnis ihres bisherigen Zustandes. Hat sich der vegetative Zustand im

Laufe der Zeit nicht verändert (Abb. 12, Kurve 1), so ist der Gesamtumriß des Achsenverbandes pyramidenförmig (Abb. 11, Schema 1). Schon eine geringe Kurztageinwirkung (Abb. 12, *KT*) verschiebt den vegetativen Zustand vorübergehend in Richtung geringerer Werte (Abb. 12, *2*), wodurch partiell enthemmte Seitenachsen entstehen (Abb. 11, *2*). Nach einer stärkeren Kurztageinwirkung wird zuerst die Grenzlinie der Inflorescenzbildung (Abb. 12, G_v) überschritten. Diese liegt nach unseren bisherigen Erfahrungen etwa beim Dominanzwert 1.

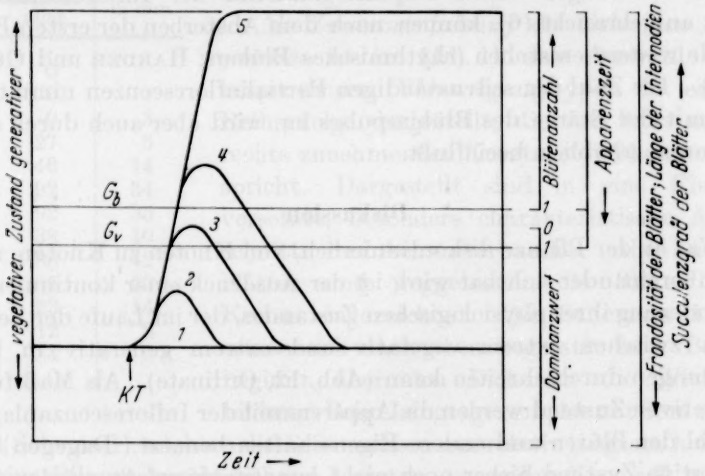


Abb. 12. Veränderungsmöglichkeiten des vegetativen Zustandes durch Kurztageinwirkung (*KT*) verschiedener Stärke. Näheres im Text

Wird dabei die Grenzlinie der Blütenbildung (Abb. 12, G_b) nicht erreicht (Abb. 12, Kurve 3), entstehen vegetative Inflorescenzen (Abb. 11, *3*). Erst wenn auch diese Grenze erreicht oder überschritten wird (Abb. 12, *1*, *4* und *5*), entstehen Blüten (Abb. 11, *5* und *6*). Erschöpft sich der Blühimpuls schon während der Bildung der ersten Inflorescenz, so werden die Grenzzustände noch einmal in umgekehrter Reihenfolge durchschritten (Abb. 12, *4*). Die Anzahl der enthemmten Seitenachsen sowie die Anzahl der Blüten ist unter sonst gleichen Bedingungen um so größer, je länger die Pflanze im Zustand der Grenzüberschreitung verweilt. Hält der generative Zustand so lange an, daß die Blütenbildung durch andere Faktoren begrenzt wird (Abb. 12, *5*), so entsteht eine normale Inflorescenz (Abb. 11, *6*), und die Rückkehr in den vegetativen Zustand kann erst an den Neubildungen der späteren Wachstumsperioden abgelesen werden.

Diese Darstellungsweise gilt nicht nur für die ganze Pflanze, sondern kann sinngemäß auch auf einzelne Teile angewandt werden. Von diesen

kommen nicht nur die Laubblätter als Bildungsorte der wirksamen Substanzen in Betracht, sondern auch alle Reaktionswerte, besonders die Vegetationspunkte.

Bisher wurde nur von einer Enthemmung der Seitenachsen gesprochen, ohne Rücksicht darauf, wie diese Enthemmung zustande kommt. Die Ähnlichkeit zwischen der photoperiodischen Enthemmung und der Enthemmung durch mechanische Dekapitation legt den Gedanken nahe, daß auch die photoperiodische Enthemmung durch eine Beseitigung der Hemmwirkung der Hauptachse, speziell ihrer Spitze, hervorgerufen wird. Durch diesen Vergleich vernachlässigen wir aber, 1. daß auch noch andere Pflanzenteile derartige korrelative Funktionen ausüben können (z. B. das Tragblatt auf das Wachstum seiner Achselknospe), und 2. daß die Korrelationsprozesse nicht nur abhängig sind von der *Aktionsfähigkeit* des einen Partners, in unserem Falle von der Hauptachse, sondern auch von der *Reaktionsfähigkeit* des anderen Partners, hier der Seitenachsen. Dürfen wir bei *Kalanchoë* das unter 1. erwähnte bis zu einem gewissen Grade vernachlässigen, so gestatten unsere Versuche keine eindeutige Entscheidung der unter 2. aufgestellten Alternative. Deshalb müssen wir uns auch darauf beschränken, den Begriff der apikalen Dominanz (den Einfluß der Hauptachse auf die Entwicklung ihrer Seitenachsen) nur versuchsweise auf unser Problem anzuwenden und daneben auch noch andere Möglichkeiten (z. B. einen fördernden Einfluß der Blätter auf die Reaktionsfähigkeit der Seitenachsen) offenlassen.

Berücksichtigt man, daß die photoperiodische Enthemmung der Seitenachsen bereits in einem sehr jungen Stadium stattfindet, wahrscheinlich schon zu dem Zeitpunkt, in dem die Axillarien vom Vegetationspunkt der Hauptachse angelegt werden, so konzentriert sich unser Problem in erster Linie auf den Zustand des Vegetationspunktes. Von diesem Zustand ist abhängig einerseits, wie der Vegetationspunkt sich selbst weiterentwickelt, und andererseits, welchen Einfluß der Vegetationspunkt auf die von ihm abgegliederten Primordien ausübt. Dieser Einfluß braucht sich nicht nur auf das Wachstum der Seitenachsen zu beschränken, sondern kann sich dort auch auf den Zustand ihrer Vegetationspunkte erstrecken, die ihrerseits wieder auf ihre eigenen Axillarien wirken, und so fort.

Von dem, was im Vegetationspunkt selbst abläuft, ist lediglich bekannt, daß er unter der Kurztageinwirkung in der Bildung einer Blütenanlage aufgeht. Seine Dominanz über die Seitenachsen kann sich aber schon vorher reversibel verändern. Machen wir für die veränderliche Stärke der Dominanz in erster Linie einen veränderlichen Zustand des Vegetationspunktes verantwortlich, so erhebt sich die Frage, ob

Enthemmung und Blütenbildung lediglich verschiedene Folgen des gleichen physiologischen Vorganges sind oder ob jeder der beiden Prozesse seine eigenen stofflichen Grundlagen hat. Mit anderen Worten: Werden Inflorescenzbildung und Blütenbildung in gleicher Weise (etwa nur durch verschiedene Konzentrationen des blütenbildenden Prinzips) bewirkt, oder sollten beide Vorgänge auf verschiedenen Prozessen beruhen, die sich möglicherweise sogar schon in ihrem Entstehungsort, den Blättern, unterscheiden lassen?

Diese Frage ließ sich an *Kalanchoë* bis jetzt noch nicht entscheiden. Auch andere Crassulaceen reagieren wie *Kalanchoë*, indem die gleichen photoperiodischen Bedingungen, welche die apikale Dominanz aufheben, auch die Blütenbildung auslösen (Resende 1955 und andere Veröffentlichungen). Die nach einer schwachen Induktion gebildeten vegetativen Inflorescenzen zeigen, daß Enthemmung und Blütenbildung wie bei *Kalanchoë* zeitlich nacheinander auftreten. Das Gleiche gilt auch für die Compositen *Piqueria trinervia* (Zimmerman und Kjennerud 1950) und *Rudbeckia* (Murneek 1940, Abb. 6). Bei einigen *Bryophyllum*-Arten kann die Blütenbildung nicht nur photoperiodisch, sondern auch chemisch durch Gibberellin ausgelöst werden (Bünsow und Harder 1956). Gleich einer schwachen photoperiodischen Induktion vermag auch eine in bezug auf die Blütenbildung unterschwellige Gibberellinmenge die Bildung vegetativer Inflorescenzen hervorzurufen (Penner 1960). Auch *Rudbeckia*-Arten können durch Gibberellin zum Blühen veranlaßt werden (Bünsow und Harder 1957). Nach eigenen neueren Versuchen reagiert auch *Rudbeckia* auf wenig Gibberellin nur mit einer Streckung der Hauptachse und einer inflorescenzartigen Verzweigung. Diese Fälle zeigen, daß das Verhalten von *Kalanchoë* nicht isoliert dasteht.

Doch gibt es auch Objekte, bei denen Apikaldominanz, Verzweigung oder Inflorescenzbildung einerseits und Blütenbildung andererseits schärfer getrennt sind. Schon aus den ältesten photoperiodischen Versuchen (z. B. Garner und Allard 1923) geht hervor, daß die Tageslänge die apikale Dominanz erheblich beeinflussen kann. Daß dieser Vorgang relativ selbständig ist, wird besonders deutlich, wenn der Übergang zur Blütenbildung entweder überhaupt nicht auftritt oder durch Korrelationsvorgänge nicht wesentlich beeinflußt wird. Auch *Rhododendron catawbiense* entwickelt im Dauerlicht hauptsächlich die Hauptachse, in kurzen Tageslängen dagegen vorwiegend Seitensprosse (Wellensiek, Doorenbos und de Zeeuw 1954). Nach eigenen Versuchen bilden Stecklinge von *Lonicera japonica* im Langtag meterlange windende Sprosse, die unverzweigt bleiben. Nach Überführung in den Kurztag stellt die Hauptachse das Wachstum ein, und nun entwickeln sich gestauchte Seitenachsen. Die Pflanzen bleiben aber unter beiden

Bedingungen vegetativ. Auch bei *Fagopyrum tataricum* fördert der Langtag das Wachstum der Hauptachse und hemmt die Seitenachsen. Dagegen ist im Kurztag bei geringerem Wachstum der Hauptachse die Verzweigung stark ausgeprägt. Bei diesem Objekt entstehen Blütenanlagen in allen Tageslängen, doch blühen die Pflanzen nur im Kurztag, weil die Dominanz der vegetativ bleibenden Hauptachse die Weiterentwicklung der Blüten verhindert (Skok und Scully 1955). Eine deutliche Trennung von Inflorescenzbildung und Blütenbildung ist uns kürzlich bei *Bryophyllum crenatum* gelungen (Penner 1960). Bei diesem Objekt kann Blütenbildung durch Gibberellin (sowohl aus Pilzkulturen als auch aus Samen) im Kurztag leicht ausgelöst werden, nicht jedoch im Langtag (Bünsow und Harder 1956, Bünsow, Penner und Harder 1958, 1961). Durch eine Entblätterung mit gleichzeitiger Gibberellingabe entstehen aber auch im Langtag je nach den Bedingungen partiell enthemmte Seitenachsen oder vegetative Inflorescenzen. Trotz Variation der Bedingungen konnten jedoch niemals Anzeichen von Blütenbildung beobachtet werden. Hier ist also der erforderliche niedrige Dominanzgrad als Bedingung der Inflorescenzbildung vorhanden, nicht aber die Grundlage der Blütenbildung, die bei *Bryophyllum* wahrscheinlich nur im Kurztag entstehen kann. *Es werden daher vegetative Inflorescenzen nicht mehr bedenkenlos als Anzeichen eines schwachen Blühimpulses gewertet werden dürfen.*

Schon die alten Teratologen kannten zahlreiche Fälle von Inflorescenzbildung ohne Blütenbildung (z. B. Masters 1869). An der Stelle der Blüten können auch Laubknospen oder -blätter stehen. Bei manchen Arten tritt das häufiger auf. So soll *Anemone rivularis* im nördlichen Indien häufig mit vegetativen Inflorescenzen anzutreffen sein (Masters 1869, Seite 165). Bekannter sind die sog. viviparen Pflanzen. Bei den proliferierenden Rassen von *Poa alpina* und anderen Gräsern kann Inflorescenzbildung und Blütenbildung experimentell weit unabhängiger beeinflußt werden als bei den samenbildenden Rassen. Viele von ihnen benötigen für die Inflorescenzbildung die Einwirkung tiefer Temperaturen. Ob die Inflorescenzen Blüten tragen oder nicht, hängt von der Tageslänge ab (Schwarzenbach 1953, Wycherley 1954). Die Inflorescenzen von *Polygonum viviparum* tragen meist gleichzeitig Blüten und Knöllchen. Nach eigenen Beobachtungen nimmt der Anteil der Brutknollen zu mit steigender Höhe des Standortes. Bei den *Vitaceen* treten blütenlose Inflorescenzen in der Form von Ranken regelmäßig auf (Brandt 1911). Bei *Aloe*-Kreuzungen konnten vollständig ausgebildete Inflorescenzen ohne Blüten beobachtet werden (Resende 1956). Es gibt demnach vegetative Inflorescenzen aller Ausbildungsgrade, von der ersten Andeutung bis zur vollständigen Ausbildung.

Andererseits ist denkbar, daß alle Grundlagen der Blütenbildung bereits vorhanden sind, die generative Phase aber nicht eintreten kann, weil die apikale Dominanz zu hoch ist. Hier sollen nur solche Beispiele angeführt werden, bei denen wenigstens eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür spricht, daß nicht bloß eine allgemeine Entwicklungshemmung, sondern eine spezifische Hemmung der generativen Tendenz vorlag. In diesem Sinne kann man Versuche an *Mangifera indica* (Reece, Furr und Cooper 1946, 1949), *Aporocactus flagelliformis* (Palhinha 1952), *Pinus silvestris* (Wareing 1953), *Chrysanthemum morifolium* (Vince und Mason 1954, 1957; Schwabe 1954) und *Pennisetum clandestinum* (Carr und Ng 1956) interpretieren, bei denen allein durch eine mechanische Dekapitation die Blütenbildung vorzeitig ausgelöst oder überhaupt erst ermöglicht wurde. Auch die obligatorische Langtagpflanze *Oenothera berteriana*, die im Kurztag jahrelang als Rosette vegetativ bleibt, treibt nach Dekapitation Seitenachsen aus, die einige Wochen später Blüten anlegen (Schwemmle 1959). Es muß also von der Endknospe ein Einfluß ausgehen, der die vegetative Entwicklung der Seitenachsen nicht unbedingt verhindert, wohl aber deren Eintritt in die generative Phase. Die gleiche Wirkung kann auch von einer Inflorescenz ausgehen, worauf das Vegetativbleiben der untersten Seitenachsen bei *Salvia longistyla* beruhen soll (Montagnani 1953).

Man darf daher erwarten, daß unter solchen Bedingungen auch andere Maßnahmen, welche die apikale Dominanz verringern, die Blütenbildung fördern können. Es ist möglich, daß die Beseitigung einer Blühhemmung durch *Entblätterung* bei der Tomate und der Bohne (de Zeeuw 1954, 1956; Heinze 1959) oder bei der Sojabohne (Fisher 1955) in diesem Sinne interpretiert werden kann. Dafür spricht auch, daß bei *Hyoscyamus* durch Entblätterung die Blütenbildung unter sonst vegetativen Bedingungen ausgelöst werden kann (Lang und Melchers 1943). Auch bei *Circaea intermedia* hat eine Entblätterung den gleichen wachstumsfördernden Effekt wie eine gibberellinhaltige Paste und bewirkt wie diese Blütenbildung (Dostal 1959). Doch wird man noch genauer zwischen jüngeren und älteren Blättern sowie deren allgemeinen und spezifischen Funktionen unterscheiden müssen. Bei *Xanthium* wird die apikale Dominanz kontrolliert durch die 3 Blätter, die kürzer sind als 20 mm. Das apikale Meristem mit den jüngsten Blattprimordien ist unwirksam (McIlrath und Bogorad 1960). Der photoperiodische Lichteinfluß, der die Blütenbildung bewirkt, ruft ebenfalls Verzweigung hervor, geht jedoch über die älteren Blätter (Bogorad und McIlrath 1960). Auch eine *Verdunkelung* der Pflanze wirkt bei *Selaginella martensii* wie eine Dekapitation (Rzehak 1956) und verringert auch bei *Mirabilis jalapa* die apikale Dominanz (Vardar 1955). Eine dementsprechende Förderung der Blütenbildung

durch Verdunkelung konnte bei *Kalanchoë blossfeldiana* nachgewiesen werden (Bünsow 1953, Rünger 1958). Neuerdings wird die Meinung vertreten, daß dauernde Verdunkelung bei ausreichender Ernährung zu besseren Blühergebnissen führt als kurze Lichtzeiten (Best 1960). Da auch die Wurzel eine Komponente der korrelativen Knospenhemmung beisteuert (Libbert 1955), dürfte die schon seit dem Altertum bekannte Blühförderung durch *Entwurzelung* (z. B. Vöchting 1884), die neuerdings auch bei der Erbse (Haupt 1955), bei der Gerste (Humphries 1958) und bei *Kalanchoë* (Hassbargen 1959) experimentell erzielt werden konnte, auf den gleichen Zusammenhängen beruhen. Schließlich sei noch die Blühförderung durch *Horizontallegen* ganzer Pflanzen oder durch *Abwärtsbiegen* der Zweige erwähnt, wodurch die apikale Dominanz ebenfalls verringert wird (van Overbeek und Cruzado 1948, Fisher 1957, Wareing und Nasr 1958, Longman und Wareing 1958).

Über die Stoffe, die an diesen Vorgängen beteiligt sind, wissen wir noch außerordentlich wenig. Zwar liegen schon wertvolle Untersuchungen über die Veränderungen im Gehalt vieler Substanzen während oder nach dem Übergang in die generative Phase vor, doch werden die meisten lediglich als Folgeerscheinungen gewertet werden können. Neuerdings werden spezifische „reproduktive" Ribonucleinsäuren angenommen (Hess 1961).

Die älteste Hypothese über die stofflichen Vorgänge bei der Blütenbildung postulierte eine spezifische Substanz. Sie mußte Platz machen einer anderen, welche das Verhältnis der Kohlenhydrate zu den Stickstoffverbindungen in den Vordergrund stellte, wurde aber nach der Entdeckung des Photoperiodismus in der Form der Blühhormon-Hypothese wieder aktuell. Die Notwendigkeit besonders von Zuckern konnte durch viele weitere Versuche erwiesen werden. Da aber das Blühhormon nicht gefunden werden konnte, wurden auch blühhemmende Prozesse in Erwägung gezogen, ja sogar ganz allein verantwortlich gemacht. Dabei dachte man besonders an Auxine. In den meisten Fällen hemmen diese die Blütenbildung und erhöhen die apikale Dominanz, was ganz im Sinne unserer bisherigen Erörterungen ist. Doch deren eigentliche Rolle bei diesen Prozessen ist noch recht unklar. Ohne Zweifel werden bei *Kalanchoë* wie bei anderen Objekten blühfördernde und blühhemmende Prozesse gleichzeitig wirksam sein (Harder und Bünsow 1954; Wellensiek, Doorenbos und de Zeeuw 1954; Haupt 1958). Wieweit der Korrelationshemmstoff, der ja zu den Auxinen in naher Beziehung steht, an der Blütenbildung beteiligt ist, ist noch ganz unklar. Einerseits wird die Meinung vertreten, daß an korrelativ gehemmten Achsen die Blühprozesse ebenfalls gehemmt sind (Laibach und Kribben 1953), andererseits aber auch, daß sie gefördert sind (Umrath 1948, Libbert 1955).

Schließlich sind in jüngster Zeit durch die Entdeckung der Gibberellinwirkungen der Hypothesenbildung neue Möglichkeiten eröffnet worden (z. B. Tschailachjan 1958).

Der Unterschied zwischen vegetativen und generativen Prozessen tritt in vielen Fällen auch in der Natur offener in Erscheinung. Häufig verlaufen sie zeitlich oder räumlich schärfer getrennt (z. B. Bünning 1952) und können gelegentlich durch besonders anschauliche Übergangsformen verbunden sein, z. B. bei Euphorbia-Arten (Zimmermann 1925; Troll und Heidenhain 1953; Rünger 1956). Damit Blütenbildung stattfinden kann, muß der vegetative Prozeß unter eine gewisse Intensität zurückgegangen sein, der generative eine solche überschritten haben. Das erstere ist schon hinreichend für die Bildung vegetativer Inflorescenzen. Für die Blütenbildung dagegen sind beide Voraussetzungen notwendig, aber erst beide zusammen sind auch hinreichend.

Zusammenfassung

Bei *Kalanchoë* wird die Verzweigung durch die Tageslänge reguliert. Diese wirkt in erster Linie über die Laubblätter auf die Dominanzfunktion der Hauptachse. Im Langtag ist die hemmende Wirkung der Sproßspitze auf das Wachstum der Seitenachsen relativ stark. Bereits eine geringe Kurztageinwirkung vermindert die apikale Dominanz vorübergehend so weit, daß die zu dieser Zeit jüngsten Seitenachsen auch später aus dem pyramidenförmigen Gesamtumriß des Achsensystems mehr oder weniger hervorragen. Nach einer etwas stärkeren Kurztageinwirkung werden eine bis mehrere Seitenachsen vollständig enthemmt, wodurch vegetative Inflorescenzen entstehen. Für deren Bildung existieren 2 optimale Tageslängen. Erst nach einer noch stärkeren Kurztageinwirkung werden die Vegetationspunkte, zuerst der Endvegetationspunkt der Hauptachse, zu Blütenanlagen umgestaltet. Die Enthemmung der Seitenachsen findet in einem größeren Tageslängenbereich statt als die Blütenbildung. Sie beginnt auch an der Pflanze früher und dauert länger an als die Blütenbildung. Daher ist die auf der Enthemmung der Seitenachsen beruhende Inflorescenzbildung nicht eine Folge der Blütenbildung, sondern eine selbständige photoperiodische Reaktion.

Die apikale Dominanz ist ein Kennzeichen für den vegetativen Zustand der Pflanze. Es wird eine Methode angegeben, wie die Stärke der apikalen Dominanz durch einen Dominanzwert bestimmt werden kann. Damit kann nun auch der vegetative Zustand der Pflanze quantitativ ermittelt und an die gebräuchlichen Skalen des generativen Zustandes angeschlossen werden.

Achsengestaltung (Inflorescenzbildung) und Blattgestaltung (Blütenbildung) der generativen Phase lassen sich bei einigen anderen Objekten noch deutlicher trennen. Einerseits kann die apikale Dominanz herabgesetzt werden, ohne daß auch die Bedingungen für die Blütenbildung vorhanden sind. In diesem Falle entstehen stets nur vegetative Inflorescenzen. Andererseits können alle Bedingungen für die Blütenbildung gegeben sein außer der, daß die apikale Dominanz den erforderlichen Wert hat. In diesem Falle kann schon lediglich durch eine Verringerung der apikalen Dominanz Blütenbildung hervorgerufen werden. Daraus wird ersichtlich, daß die Blütenbildung durch 2 antagonistisch wirkende Prozesse reguliert wird, von denen der eine fördernd, der andere hemmend wirkt. Damit Blütenbildung stattfinden kann, muß der eine eine gewisse Intensität überschritten, der andere unterschritten haben. Das letztere ist schon hinreichend für die Inflorescenzbildung. Für die Blütenbildung sind beide Voraussetzungen notwendig, aber erst beide zusammen sind auch hinreichend.

Diese Arbeit ist die gekürzte Fassung eines Teiles einer Habilitationsschrift der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen. Ich danke meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Harder, für seine wertvolle Hilfe, die meine Bemühungen wesentlich gefördert hat, sowie Herrn Professor Dr. A. Pirson für sein Interesse und die Gewährung der Möglichkeit, die vorliegenden Untersuchungen abzuschließen.

Literatur

Best, R.: Photoperiodism in plants as studied by means of response curves. Proc. kon. ned. Akad. Wet. C **63**, 676 (1960).

Bogorad, L., and W. J. McIlrath: Effect of light quality on axillary bud development. Plant Physiol. **35** (Suppl.), XXXII (1960).

Brandt, M.: Untersuchungen über den Sproßaufbau der *Vitaceen* mit besonderer Berücksichtigung der afrikanischen Arten. Bot. Jb. **45**, 509 (1911).

Bünning, E.: Über die Ursachen der Blühreife und Blühperiodizität. Z. Bot. **40**, 293 (1952).

Bünsow, R.: Über tages- und jahresrhythmische Änderungen der photoperiodischen Lichtempfindlichkeit bei *Kalanchoë blossfeldiana*. Z. Bot. **41**, 257 (1953).

— Die Wirkung der Tageslänge auf die apikale Dominanz bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, (12) (1957).

— Zur Physiologie der Achsengestaltung bei *Kalanchoë blossfeldiana*. I. Mitt. Die Hauptachse. Planta (Berl.) **57**, 71 (1961).

—, u. R. Harder: Blütenbildung von *Bryophyllum* durch Gibberellin. Naturwissenschaften **43**, 479 (1956).

— — Blütenbildung von *Adonis* und *Rudbeckia* durch Gibberellin. Naturwissenschaften **44**, 453 (1957).

— J. Penner u. R. Harder: Blütenbildung bei *Bryophyllum* durch Extrakt aus Bohnensamen. Naturwissenschaften **45**, 46 (1958).

Bünsow, R., J. Penner u. R. Harder: Die Wirkung der Gibberelline auf die photoperiodisch bedingten Blühvorgänge besonders bei Lang-Kurztagpflanzen. Vortrag auf dem Gibberellin-Symposium in Gießen 1960 (im Druck).

Carr, D. J., and E. K. Ng: Experimental induction of flower formation in Kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov.). Aust. J. Agric. Res. **7**, 1 (1956).

Dostál, R.: Gibberellic acid and growth correlations. Nature (Lond.) **183**, 1338 (1959).

Fisher, J. E.: Floral induction in soybeans. Bot. Gaz. **117**, 156 (1955).

— Effect of gravity on flowering of soybeans. Science **125**, 396 (1957).

Garner, W. W., and H. A. Allard: Further studies in photoperiodism, the response of the plant to relative length of day and night. J. Agric. Res. **23**, 871 (1923).

Harder, R., u. R. Bünsow: Über die Wirkung der Tageslänge vor der Kurztaginduktion auf die Blütenbildung von *Kalanchoë blossfeldiana*. Planta (Berl.) **43**, 315 (1954).

—, u. G. Gümmer: Über rhythmische Nachwirkungen der photoperiodischen Reaktion bei *Kalanchoë blossfeldiana*. Biol. Zbl. **72**, 386 (1953).

— H. v. Witsch u. O. Bode: Über Erzeugung einseitig und allseitig verlaubter Inflorescenzen durch photoperiodische Behandlung der Laubblätter. Jb. wiss. Bot. **90**, 546 (1942).

Hassbargen, H.: Über photoperiodisch induziertes Blühen und Blutungsrhythmik bei Belichtung der Wurzeln und das Blühen von Sproßstecklingen. Z. Bot. **48**, 1 (1959).

Haupt, W.: Förderung der Blütenbildung durch Hemmung der vegetativen Entwicklung. Planta (Berl.) **46**, 403 (1955).

— Die Blütenbildung bei *Pisum sativum*. Z. Bot. **46**, 242 (1958).

Heinze, W.: Über den Einfluß des Blattes auf den Blühtermin der Tomate. Naturwissenschaften **46**, 609 (1959).

Hess, D.: Ribosenucleinsäure und Blühinduktion. Planta (Berl.) **56**, 229 (1961).

Humphries, E. C.: The effect of removal of the root system of barley on the production of ears. Ann. Botany **22**, 417 (1958).

Laibach, F., u. F. J. Kribben: Apikaldominanz und Blühreife. Beitr. Biol. Pflanz. **30**, 127 (1953).

Lang, A., u. G. Melchers: Die photoperiodische Reaktion von *Hyoscyamus niger*. Planta (Berl.) **33**, 653 (1943).

Libbert, E.: Über mögliche Beziehungen zwischen Korrelationshemmstoff und Blütenbildung. Naturwissenschaften **42**, 610 (1955).

— Der Einfluß von Blatt und Wurzel auf die auxininduzierte korrelative Knospenhemmung. Flora (Jena) **142**, 619 (1955).

Longman, K. A., and P. F. Wareing: Effect of gravity on flowering and shoot growth in Japanese larch (*Larix leptolepis* Murray). Nature (Lond.) **182**, 380 (1958).

Masters, M. T.: Vegetable Teratology. London 1869.

McIlrath, W. J., and L. Bogorad: The control of axillary bud growth in *Xanthium*. Plant. Physiol. **35** (Suppl.), XIX (1960).

MONTAGNANI, P.: L'influenza delle condizioni fotoperiodiche e termiche sull'accrescimento e riproduzione della *Salvia longistyla* Benth. Nuova Giorn. bot. ital. **60**, 434 (1953).

MURNEEK, A. E.: Length of day and temperature effects in *Rudbeckia*. Bot. Gaz. **102**, 269 (1940).

OVERBEEK, J. VAN, and H. J. CRUZADO: Flower formation in the pineapple plant by geotropic stimulation. Amer. J. Bot. **35**, 410 (1948).

PALHINHA, T. R.: About the flowering of *Aporocactus flagelliformis* (Miller) Lem. Port. Acta biol. A **3**, 275 (1952).

PENNER, J.: Über den Einfluß von Gibberellin auf die photoperiodisch bedingten Blühvorgänge bei *Bryophyllum*. Planta (Berl.) **55**, 542 (1960).

REECE, P. R., J. R. FURR and W. C. COOPER: The inhibiting effect of the terminal bud on flower formation in the axillary buds of the haden mango *(Mangifera indica* L.). Amer. J. Bot. **33**, 209 (1946).

— — — Further studies of floral induction in the haden mango *(Mangifera indica* L.*)*. Amer. J. Bot. **36**, 734 (1949).

RESENDE, F.: Gradacao floral e compartamento das PDCL na transmissao do estado floral entre «Donor» e «Acceptor» *(Bryophyllum* e *Kalanchoë)*. Portug. Acta biol. A **4**, 272 (1955).

— «Inflorescencias florais» sem flores *(Aloe)*. Bol. Soc. portug. Ci. nat., Ser. II **6**, 227 (1956).

RÜNGER, W.: Über den Einfluß der Temperatur und der Tageslänge auf die Blütenbildung von *Euphorbia splendens* Bojer. Gartenbauwiss. **3**, 239 (1956).

— Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoë blossfeldiana* Poellnitz cv. Tom Thumb (II). Gartenbauwiss. **23**, 282 (1958).

RZEHAK, H.: Zum Übergipfelungsprozeß. Entwicklungsphysiologische Experimente an *Selaginella martensii*. Z. Bot. **44**, 265 (1956).

SCHWABE, W. W.: Acceleration of flowering in non-vernalized chrysanthemums by the removal of apical sections of the stem. Nature (Lond.) **174**, 1022 (1954).

SCHWARZENBACH, F. H.: Die Abhängigkeit der Bulbillenbildung bei *Poa alpina vivipara* von Photoperiodismus und Frost. Experientia (Basel) **9**, 96 (1953).

SCHWEMMLE, B.: Persönliche Mitteilung 1959.

SKOK, J., and N. J. SCULLY: Nature of photoperiodic responses of buckwheat. Bot. Gaz. **117**, 134 (1955).

TROLL, W., and B. HEIDENHAIN: Studien über die Inflorescenzen von *Euphorbia cyparissias*. Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 377 (1953).

TSCHAILACHJAN, M. CH.: Hormonale Faktoren des Pflanzenblühens. Biol. Zbl. **77**, 641 (1958).

UMRATH, K.: Dornenbildung, Blattform und Blütenbildung in Abhängigkeit von Wuchsstoff und korrelativer Hemmung. Planta (Berl.) **36**, 262 (1948).

VARDAR, Y.: A study on the apical bud inhibition upon the lateral branches. Rev. Fac. Sci. Istanbul B **20**, 245 (1955).

VINCE, D., and D. T. MASON: Acceleration of flowering in non-vernalized chrysanthemums by the removal of apical sections of the stem. Nature (Lond.) **174**, 842 (1954).

Vince, D., and D. T. Mason: The effect of removing apical sections of the stem on the flowering behaviour of non-vernalized chrysanthemums. J. Hortic. Sci. **32**, 184 (1957).

Vöchting, H.: Organbildung im Pflanzenreich, Teil 2. Bonn 1884.

Wareing, P. F.: Experimental induction of male cones in *Pinus silvestris*. Nature (Lond.) **171**, 47 (1953).

—, and T. Nasr: Effects of gravity on growth, apical dominance and flowering in fruit trees. Nature (Lond.) **182**, 379 (1958).

Wellensiek, S. J., J. Doorenbos and D. de Zeeuw: The mechanism of photoperiodism. VIII. Congr. Intern. Bot. 1954, Sect. 11 et 12, p. 307.

Wycherley, P. R.: Vegetative proliferation of floral spikelets in british grasses. Ann. Bot., N. S. **18**, 119 (1954).

Zeeuw, D. de: De invloed van het blad op de bloei. Meded. Landbouwhoogesch. Wageningen **54**, 1 (1954).

— Leaf induced inhibition of flowering in tomato. Proc. kon. ned. Akad. Wet. C **59**, 535 (1956).

Zimmerman, P. W., and J. Kjennerud: Flowering and other responses induced in *Piqueria trinervia* with photoperiodic treatment. Contrib. Boyce Thompson Inst. **16**, 177 (1950).

Dozent Dr. R. Bünsow,
Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Göttingen, Untere Karspüle 2

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

II. Formelle Anforderungen

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse anzufügen. Eine Übersetzung dieser Zusammenfassung in eine andere der Kongreß-Sprachen kann in Petit-Druck hinzugefügt werden, sofern beide Zusammenfassungen nicht mehr als insgesamt $1^1/_2$ Druckseiten beanspruchen.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d.h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Handbuch der Pflanzenphysiologie
Encyclopedia of Plant Physiology
Herausgegeben von W. RUHLAND †
In Gemeinschaft mit
E. ASHBY, Belfast · J. BONNER, Pasadena · M. GEIGER-HUBER, Basel · W. O. JAMES, London · A. LANG, Pasadena · D. MÜLLER, Kopenhagen · M. G. STÅLFELT, Stockholm
In 18 Bänden

Im Frühsommer 1961 wird erscheinen:

16. Band

Außenfaktoren in Wachstum und Entwicklung
External factors affecting growth and development

Bearbeitet von zahlreichen Fachgelehrten
Redigiert von G. MELCHERS, Tübingen

Mit 210 Abbildungen und 1 Porträt. Etwa 950 Seiten Gr.-8°. 1961.
(11 Beiträge in englischer und 7 Beiträge in deutscher Sprache)

Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 214,40
Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 268,—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes gilt der Vorbestellpreis auch nach Erscheinen des Bandes weiter als Subskriptionspreis bis zum Abschluß des Werkes; jedoch ist jeder Band zum Ladenpreis einzeln käuflich

INHALTSÜBERSICHT

Einführung. Von G. MELCHERS, Tübingen · Temperature: Survey. Thermoperiodicity. By F. W. WENT, St. Louis/Missouri, USA. Kältebedürfnis in Wachstum und Entwicklung · Strahlungen: Licht einschließlich langwelliges Rot. The effects of ultraviolet radiation on plants. By J. A. LOCKHART, Honululu/Hawaii, USA, and U. BRODFÜHRER-FRANZGROTE, Peoria, Jll., USA. Ionizing radiations: Biochemical, physiological and morphological aspects of their effects on plants. By J. E. GUNCKEL, New Brunswick/N.J., USA, A. H. SPARROW, Upton/N.Y., USA · Meterwellen. Von J. REINERT, Berlin · The effect of water supply and humidity on growth and development. By E. WANGERMANN, Leicester, Great Britain · Die mechanischen Wirkungen auf das Pflanzenwachstum. Von F. GESSNER, Kiel · Hydrostatischer Druck und Pflanzenwachstum. Von F. GESSNER, Kiel · Chemische Einflüsse von außen. Chemical influences of other plants (allelopathy). By M. EVENARI, Jerusalem, Israel. Chemical influences of the environment. By D. J. CARR, Belfast, Northern Ireland · Namenverzeichnis-Author Index · Sachverzeichnis (Deutsch-Englisch). Subject Index (English-German).

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany